

Die Bedeutung der Hyaluronidase und ihrer Inhibitoren für die Befruchtung

**Untersuchungen über den Einfluß des
Roßkastanienextraktes „Venostasin“ auf die
Fertilität der weißen Ratte**

Dieter M. J. Jäger

[1959]

AUS DER I. FRAUENKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. W. BICKENBACH

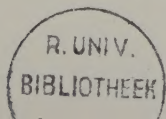
DIE BEDEUTUNG DER HYALURONIDASE
UND IHRER INHIBITOREN FÜR DIE BEFRUCHTUNG

Untersuchungen über den Einfluss des Rosskastanienextraktes
"Venostasin" auf die Fertilität der weissen Ratte

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Dieter M. J. Jäger
aus Berlin

München 1959



5349/60.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. G.K. DÖRING
Mitberichterstatter: Professor Dr. W. BICKENBACH
Dekan: Professor Dr. H. SCHWIEGK

Tag der mündlichen Prüfung: 1.12.1959

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. EINLEITUNG

2. HISTORISCHE UND EXPERIMENTELLE GRUNDLAGEN

1. Das Hypophysenhormon-Hypophysenhormon-System

Das Hypophysenhormon	1
Die Hypophysenhormone	2
Die Hypophysenhormone	14
Die Hypophysenhormone	15
Die Hypophysenhormone	16
Die Hypophysenhormone	17

MEINEN ELTERN

2. Die Spermatogonien

In der Spermatogonie	18
In der Spermatogonie	19

3. Die Funktion der Spermatogonien bei Oxidation und Imagination

Die Funktion der Spermatogonien bei Oxidation	19
Die Funktion der Spermatogonien bei Imagination	20
Die Funktion der Spermatogonien bei Imagination	21

4. Die funktionelle Funktion der Spermatogonien

Die funktionelle Funktion der Spermatogonien	22
--	----

5. Die Funktion der Spermatogonien bei der Immunisierung der Fische

Die Funktion der Spermatogonien bei der Immunisierung der Fische	23
---	----

6. Bisherige Versuche, durch medikamentöse Behandlung der Hypophysenhormon-Aktivität die Fertilität zu steigern

Bisherige Versuche, durch medikamentöse Behandlung der Hypophysenhormon-Aktivität die Fertilität zu steigern	24
--	----

7. Der Beeinflussungsmechanismus "Verdauung" und dessen Einfluss auf die Hypophysenhormon- Aktivität

Der Beeinflussungsmechanismus "Verdauung" und dessen Einfluss auf die Hypophysenhormon- Aktivität	25
---	----

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I. EINLEITUNG	7
II. THEORETISCHE UND EXPERIMENTELLE GRUNDLAGEN:	
1. Das Hyaluronsäure-Hyaluronidase-System:	
Historisches	7
Die Hyaluronidase	8
Die Substrate	10
Die chemische Wirkung der Hyaluronidase	12
Die Steuerung der Hyaluronidase in vivo und in vitro	13
Das Vorkommen der Hyaluronidase	14
2. Die Spermahyaluronidase:	
In der Spermaflüssigkeit	15
In den Spermien	15
3. Die Funktion der Spermahyaluronidase bei Denudation und Imprägnation:	
Die Entwicklung bis zur Fermentchemischen Besamungstheorie	17
Die Fermentchemische Besamungstheorie von McCLEAN und ROWLANDS	20
Neuere Erkenntnisse und Berichtigung dieser Theorie	21
4. Die intraspermale Funktion der Spermahyaluronidase	27
5. Die Funktion der Spermahyaluronidase bei der Ernährung der Frucht	28
6. Bisherige Versuche, durch medikamentöse Hemmung der Hyaluronidase - Aktivität die Fertilität zu beeinflussen	30
7. Der Rosskastanienextrakt "Venostasin" und dessen Einfluss auf die Hyaluronidase - Aktivität	38

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS VON VENOSTASIN AUF DIE FERTILITÄT DER WEISSEN RATTE	
1. Einleitung	42
2. Die Versuchsbedingungen	43
Art und Gewicht der Versuchstiere	
Temperatur-, Nist- und Futterverhältnisse	
Die Dosierung des Venostasin	
3. Untersuchung der Fertilität normaler Ratten	44
Paarung in den Paarungsreihen A1, A2, A3	
Zahlenmässige Erfassung der Schwangerschaften und der Jungen	
Auslese der fertilen Tiere	
4. Untersuchung der Fertilität dieser Auslese- Tiere unter Verabreichung von Venostasin an einen Teil derselben	48
Intraperitoneale Verabreichung von Venostasin	
Nochmalige Paarung in den Paarungsreihen B1, B2, B3, B4	
Zahlenmässige Erfassung der Schwangerschaften und der Jungen	
5. Untersuchung der Ovarialfunktion normaler Ratten unter Verabreichung von Venostasin	54
6. Histologische Untersuchung von Organen auf spezifische morphologische Veränderun- gen	60
7. Besprechung der Ergebnisse	61
8. Zusammenfassung	69
IV. ANHANG:	
Untersuchungsprotokolle der Paarungen	70
Literaturverzeichnis	86
Nachwort	100

In der Literatur der letzten zehn Jahre wird über Versuche berichtet, durch Hemmung der Hyaluronidaseaktivität eine Empfängnisverhütung zu erreichen.

Seit fast ebensovielen Jahren wird aber an unserer I. Frauenklinik der Universität München der Rosskastanienextrakt "Venostasin i.v."⁺⁾ therapeutisch verwandt und nachdem nun verschiedene Arbeiten erschienen sind, die von einer Hyaluronidasehemmung durch Venostasin sprechen, sahen wir uns veranlasst, in ausgedehnten Tierversuchen das Venostasin auf eine fertilitätsbeeinflussende Wirkung zu überprüfen.

Ausserdem erachteten wir es jedoch für notwendig, an Hand eines eingehenden Literaturstudiums einen Überblick über die Rolle der Hyaluronidase und ihrer Inhibitoren bei den Befruchtungsvorgängen zu gewinnen.

Diese kritische Betrachtung der bisherigen experimentellen und theoretischen Grundlagen sei den eigenen Untersuchungen vorangestellt.

Das Hyaluronsäure-Hyaluronidase-System.

Historisches.

Im Jahre 1928 beschrieb DURAN-REYNALS (48) erstmals die Entdeckung, dass Stierhodenextrakt, intradermal injiziert, die Ausbreitung (= Diffusion = Spreading) von (Farb-) Lösungen in der Haut beschleunigt. In der Folgezeit wurde die zunächst rein hypothetische Wirkungskomponente in diesem Extrakt "Reynals-Faktor" oder "Diffusions-", bzw. "Spreading-Faktor" genannt, und später wegen der kapillardurchlässigkeitserhöhenden Wirkung des Extraktes auch "Permeabilitäts-Faktor" (8, 33, 50, 51).

⁺⁾ : Venostasin - Herstellerfirma: Klinge GMBH, München-23.

Diesen Reynals-Faktor konnte McCLEAN (126) 1930 auch im Sperma nachweisen.

Einige Zeit darauf berichteten im Jahre 1934 MEYER und PALMER (133) über die Isolierung einer schleimigen Substanz aus Augenglaskörpern, die sie als Hyaluronsäure bezeichneten (hyalin = glasig).

Und 1936 veröffentlichte MEYER mit seinen Mitarbeitern (132) die Beobachtung, dass diese Hyaluronsäure durch Pneumokokken zersetzt und abgebaut wird.

Dabei gelang es ihnen, diesen Effekt auf die Wirkung eines mucolytischen Fermentes zurückzuführen, und da dieses Ferment speziell auf die Hyaluronsäure zu wirken schien, wurde es Hyaluronidase genannt.

Es war dann 1939 der Verdienst von CHAIN und DUTHIE (31, 32) dass sie den Zusammenhang zwischen Pneumokokken- und Testesextrakt erkannten:

Letzterer zeigte ebenfalls diese spezifische mucolytische Wirkung. Daraus zogen sie den Schluss, dass es sich in beiden Fällen um ein und dieselbe Hyaluronidase handle.

Seit jener Zeit sind nun unzählige Arbeiten über diese Hyaluronidase veröffentlicht worden und inzwischen spricht man wegen des verbreiteten Vorkommens, der grossen Bedeutung und der engen Beziehungen von Ferment und Substrat im Organismus sogar von einem Hyaluronsäure-Hyaluronidase-System.

Die Hyaluronidase:

Bis heute konnte noch kein reines, kristallisiertes Ferment erhalten werden. Doch ergab die intensive Reinigung, dass man es hier wider Erwarten nicht mit einem einzigen Ferment zu tun hat, sondern mit einem Gemisch mehrerer thermolabiler, also proteinähnlicher Einzelfermente (69). Je nach Tierart kann dieses Gemisch nun in unterschiedlicher Zusammensetzung vorliegen (69).

Aber obwohl man um diese Einzelfermente weiss, und trotz der teilweise unterschiedlichen Zusammensetzung, wurde bisher an dem Begriff Hyaluronidase festgehalten. Als Definition dieser Gemische ist dabei allein ihr ganz spezifischer Wirkungsmechanismus anzusehen (s. U.). Dies ist insofern bedeutsam, als heute noch eine ganze Reihe anderer, mucolytisch wirksamer Agentien bekannt ist, wie z. B. das Vitamin C.

Während nun die Hyaluronidase lange Zeit mit dem Spreading- bzw. Diffusions-Faktor und mit dem Permeabilitäts-Faktor als identisch angesehen wurde, konnte jetzt nachgewiesen werden, dass Hyaluronidase und Permeabilitäts-Faktor klar unterschieden werden müssen (15, 62, 82, 107, 170): im Gegensatz zu rohen Stierhodenextrakten ruft die weitgehend isolierte, also rein mucolytisch wirksame Hyaluronidase keine Erhöhung der Kapillarpermeabilität mehr hervor. Bei den rohen Präparaten müssen also für diesen Effekt andere Extrakt-Komponenten verantwortlich gewesen sein.

Mit dem Spreading-Faktor in den Testespräparaten dürfte die Hyaluronidase dagegen weitgehend identisch sein; auch die isolierte Hyaluronidase ruft nach intradermaler Injizierung eine beschleunigte Ausbreitung beigegebenen Farbstoffes hervor (68, 69). Wenigstens während der ersten zehn Minuten (118). Bei der länger andauernden Wirkung der Rohpräparate scheinen dagegen ebenfalls andere Komponenten beteiligt zu sein.

Die Wirkungsweise der Hyaluronidase bei diesem Spreadingeffekt erklärt man sich mit ihrer mucolytischen Wirkung auf die Hyaluronsäure in der Haut; und parallel dazu zeigen auch Proteasen einen ähnlichen Spreadingeffekt (30, 66, 81), sicherlich hervorgerufen durch einen Abbau der Eiweiss-substanzen in der Haut.

Doch sind heute immerhin auch noch andere, mucolytisch und proteolytisch unwirksame Spreading-Faktoren bekannt geworden (69), wie z. B. das Histamin (18, 187), deren genauere Wirkungsweise erst noch zu klären sein wird.

Die Substrate.

Als Substrate dienen der Hyaluronidase ganz allgemein die Hyaluronsäure und deren verschiedene Schwefelsäureester, sowie mehrere stereochemisch unterschiedliche Chondroitinschwefelsäuren (134, 146).

Dabei haben diese Substrate das Eine gemeinsam, dass es sich bei allen um hochmolekulare Polysaccharide handelt, die wegen ihres mucösen und leicht sauren Charakters auch als Mucopolysaccharidsäuren bezeichnet werden.

Ausserdem finden sie sich jedoch auch noch im Gegensatz zu anderen, ähnlichen, nicht als Substrat dienenden Polysacchariden ausschliesslich in Geweben und Sekreten mesodermaler Herkunft (59), wo sie wohl meist salzartig an irgendwelche Proteine gebunden vorliegen (68, 69).

Zusammengesetzt sind diese Mucopolysaccharidsäuren aus langkettigen Fadenmolekülen mit einem Molekulargewicht von 200 000 bis zu mehreren Millionen. Doch kann z.B. die Hyaluronsäure selber wieder in ihrem Molekulargewicht differieren (Schwankungsbereich: 270 000 - 430 000 000), je nach ihrem Polymerisationsgrad (146).

Dieser jedoch wird durch eine Reihe von Faktoren bestimmt, wie z.B. Temperatur, Salz- und Wasserstoffionenkonzentration (ph-Wert).

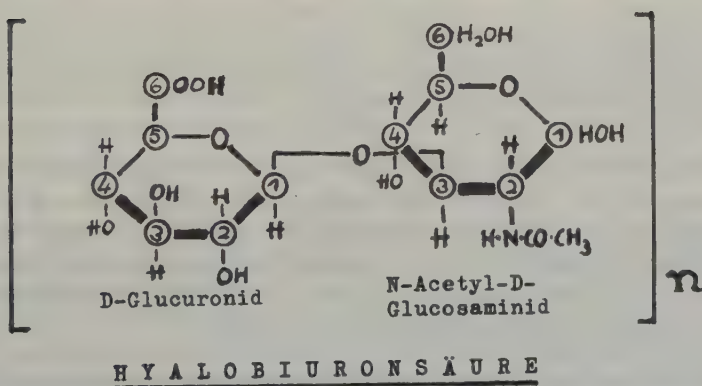
So sind also unter Begriffen wie Hyaluronsäure oder Chondroitinschwefelsäure nur bedingt definierte Verbindungen zu verstehen.

Die folgende Darstellung nach GIBIAN (68, 69) zeigt nun die chemischen "Bausteine", aus denen sich die einzelnen Substrate - immer im Verhältnis 1 : 1 - zusammensetzen:

Hyaluronsäure:	Chondroitinschwefelsäuren:
= D-Glucuronsäure	= Glucuronsäure
+ N-Acetyl-D-Glucosamin	+ N-Acetylgalaktosamin
	+ H ₂ SO ₄

Diese "Bausteine" sind nun in den Substraten zu sogenannten "Kleinsten Einheiten" verknüpft, die ihrerseits wieder untereinander zusammenhängen und unter vielfacher Wiederholung jene oben erwähnten, kettenartigen Fadenmoleküle bilden.

Im Falle der Hyaluronsäure setzt sich eine solche "Kleinste-Einheit" - Hyalobiuronsäure genannt - also aus D-Glucuronsäure und N-Acetyl-D-Glucosamin zusammen. Hierbei sind diese beiden Polysaccharide unter Abspaltung von H₂O zwischen C₁ und C₃ verbunden, d.h. die Hyalobiuronsäure ist ein D-Glucuronido-1,3-N-Acetyl-D-Glucosaminid (69, 106, 146):



Bei den einzelnen Chondroitinschwefelsäuren hat man es mit ähnlichen "Kleinsten Einheiten" zu tun, doch sind hier Struktur und Verknüpfung der verschiedenen Bausteine noch unklar.

Wichtig ist jedoch in beiden Fällen, dass das N-Acetyl-D-Glucosaminid (siehe Formel) und das N-Acetyl-Galaktosaminid in den "Kleinsten Einheiten" der Hyaluronsäure bzw. der Chondroitinschwefelsäuren reduzierende Eigenschaften haben. (69, 146).

Die chemische Wirkung der Hyaluronidase.

Die bisher einzig und allein gefundene chemische Wirkung besteht in einem hydrolytischen Abbau der viskosen Substrate unter Viskositätsabnahme und Auftreten reduzierender (s.o.) Substanzen (69):

bei dieser "Depolymerisierung" durch die Hyaluronidase werden die langkettigen Mucopolysaccharidsäuren durch Hydrolyse (auflösung bestimmter chemischer Bindungen durch Wassereinlagerung) an gewissen Stellen der Moleküle in immer kleinere Bruchstücke "zerhackt", zunächst in kürzere Polysaccharide, dann in Oligosaccharide und Disaccharide - jene kleinsten Einheiten (s.o.) - und zuletzt, nach Abspaltung eventuell gebundener Schwefelsäure, in dialysable Monosaccharide, jene oben erwähnten Bausteine.

Hyaluronidasen unterschiedlicher Tierarten können nun dabei wegen ihres differenten Gehaltes an Einzelfermenten (s.o.) die jeweiligen Substrate nur verschieden weit depolymerisieren.

Im Gegensatz zu dieser depolymerisierenden Wirkung vermuteten einige Autoren (19, 20, 68) auch eine Beteiligung der Hyaluronidase an der Synthese ihrer Substrate im Organismus. Kenntnisse über andere, besser bekannte Fermente, die durch Koppelung an energieliefernde Substanzen, wie z.B. das ATP (Adenosintriphosphat), zur Biosynthese fähig sind, mögen zu dieser Vermutung Anlass gegeben haben.

Doch konnte nun in letzter Zeit bei verschiedenen Bakterien eine Biosynthese der Hyaluronsäure nachgewiesen werden, bei der die Hyaluronidase sicher nicht beteiligt ist (146). Anscheinend sind also zum Aufbau solcher

höchstpolymeren Substrate andere Fermentkomplexe notwendig; zumal ähnliches auch aus der Eiweisschemie berichtet wird (91), wo es sich ja ebenfalls um höchstpolymere Substrate handelt.

Die Steuerung der Hyaluronidase in vivo und in vitro.

Einmal ist es im Organismus die Hyaluronidaseproduktion selbst, die beeinflusst werden kann, z.B. durch Hypophysen- (109, 112) und Keimdrüsenhormone (101).

Zum anderen ist die Hyaluronidase (theoretisch auch jedes ihrer Einzelenzyme) in ihrer Wirkungsaktivität allgemein an ganz bestimmte Bedingungen gebunden:

Neben einem Temperaturoptimum von $30 - 40^{\circ}\text{C}$ und einer optimalen Salz- und Wasserstoffionenkonzentration - Testeshyaluronidase hat ein pH-Optimum bei ca. pH 4,5 - 4,8 (69, 73) und ein Nebenoptimum bei ca. pH 6 (69) - spielt auch die Anwesenheit von Aktivatoren und Inhibitoren eine Rolle.

Von einem Inhibitor darf dabei allgemein nur dann gesprochen werden, wenn seine direkte, fermentinaktivierende Wirkung in vitro nachgewiesen werden konnte (GIBIAN). Bei Anwesenheit eines Hyaluronidase-Inhibitors muss also dieses Ferment seine mucolytische Wirkung verlieren.

Man kennt zwar heute eine Menge solcher Hyaluronidase-Inhibitoren (Zusammenstellungen bei 27, 68, 69, 78), doch herrscht über ihren Wirkungsmechanismus noch völlige Unklarheit, zumal nicht bekannt ist, welche Wirkgruppen, ja, welche Einzelenzyme dabei gehemmt werden.

Bewirkt dagegen im Organismus irgendeine Substanz, gleich, ob oral, intravenös oder intradermal verabreicht, eine Hemmung des hyaluronidasebedingten Spreading-Effekts (s.o.), so kann grundsätzlich noch nicht von einem Hyaluronidase-Inhibitor gesprochen werden, obwohl ja auch hier eine Hemmwirkung vorliegt; aber die Zwischenschaltung eines allgemeinen oder örtlich begrenzten "Relais-Mechanismus" ist ja hier nicht ausgeschlossen.

Der Organismus verfügt neben spezifischen Antikörpern und einem unspezifischen, thermolabilen Inhibitorspiegel in sämtlichen Seren, hauptsächlich über eine Reihe definierter Inhibitoren, darunter Oestron, Progesteron und Testosteron, die in vitro auch noch in extremen Verdünnungen wirksam sind (69).

Dies wirft ein Licht auf eine hormonelle Steuerung der Hyaluronidase-Aktivität, wie sie teilweise auch schon beschrieben worden ist: (20).

Das Vorkommen der Hyaluronidase.

Die Hyaluronidase ist nun nicht allein auf Pneumokokken oder Stierhoden beschränkt, wie oben beschrieben; sie findet sich vielmehr in fast allen menschlichen und tierischen Organen, sowie in vielen Bakterien und in Giften von gewissen Insekten, Spinnen und Schlangen, deren Eindringen und Ausbreitung sie im Organismus beschleunigt (vgl. Spreading). Ja, ganz allgemein wird die Hyaluronidase überall dort zu erwarten sein, wo eine Viskositätsminderung oder eine ganz spezifische Aufspaltung ihrer mesodermalen Substrate erreicht werden soll.

Doch den weitaus höchsten Gehalt an Hyaluronidase weisen beim Menschen und bei vielen Säugetieren die Hoden auf (12, 25, 49, 65, 110, 127, 153, 161, 162, 163, 165, 185, 199). Die Hyaluronidase im Sperma steht damit im Zusammenhang: sowohl Spermien als auch Spermaflüssigkeit enthalten Hyaluronidase.

In Vesiculardrüsen- und Prostatasekreten konnte diese jedoch bisher nicht nachgewiesen werden (129).

Die Spermahyaluronidase.

In der Spermaflüssigkeit.

Der Hyaluronidasegehalt der Spermaflüssigkeit beruht zumindest zum weitaus grössten Teil auf einer Diffusion aus den Spermien:

Lässt man ein Ejakulat längere Zeit stehen, so steigt die Konzentration der extrazellulären Hyaluronidase ständig an, während die Spermien unter Motilitätsverringerung ihre Eigenhyaluronidase abgeben (17, 45, 46, 61, 80, 88, 152, 180).

Verdünt man ausserdem ein frisches Ejakulat, so nimmt die zunächst verminderte Konzentration der extrazellulären Hyaluronidase solange wieder zu, bis sich das alte Verhältnis der Hyaluronidasekonzentration zwischen Spermaflüssigkeit und Spermien - ca. 1 : 3 - wieder eingestellt hat (76, 88, 168, 197). Dabei verlieren die Spermien ebenfalls an Motilität und Befruchtungsfähigkeit (34, 55).

Einige Autoren vermuten sogar, dass die Hyaluronidase nur aus sterbenden Spermien ins Plasma diffundieren kann (61, 92, 144, 152);

denn in vitro fand sich eine Proportion zwischen der Zahl der toten Spermien und der Menge der abgebauten Monosaccharide. Damit wäre auch die Tatsache geklärt, dass bei künstlicher Erhöhung der extrazellulären Hyaluronidasekonzentration keine Diffusion dieses Fermentes in die Spermien stattfindet. (55).

In den Spermien.

Die Spermien sind also als Träger der Spermahyaluronidase aufzufassen. Dafür spricht auch, die von vielen Autoren untersuchte Tatsache, dass die Hyaluronidasemenge des gesamten Spermas in gewissem Masse von der Spermienzahl abhängig ist (17, 53, 54, 61, 67, 76, 85, 86, 87, 100,

136, 137, 162, 163, 164, 166, 167, 173, 174, 178, 180, 183, 194, 195, 201). Form und Motilität der Spermien spielen dabei keine Rolle (17, 87, 128, 136).

Die reifen Spermien im Ejakulat produzieren die Hyaluronidase jedoch nicht selber (7, 17, 37, 53, 76, 87, 89, 96, 97, 110, 116, 127, 136, 161, 166, 167, 183, 184), sondern diese wird im Keim-Epithel des Hodens gebildet (17, 60, 64, 80, 102, 103, 147, 165, 183, 184, 203). Dabei ist die Hyaluronidaseproduktion vom jeweiligen Funktionszustand dieses Epithels abhängig (29, 45, 61, 96, 112, 165, 180, 189), und kann durch verschiedene Hormone gesteuert werden (s. S. 13).

Wenn sich auch die Angaben über die Beteiligung der verschiedenen, an der Produktion beteiligten Zellarten, noch zu widersprechen scheinen, der höchste Hyaluronidasegehalt der Spermien ist jedenfalls schon im Stadium der Spermatozytenbildung erreicht (96, 97, 161, 162, 163, 165).

Eine Ergänzung zu all diesen experimentellen Ergebnissen, bilden noch einige klinisch- pathologische Beobachtungen:

In Fällen von Hypo- und Oligospermie konnte eine deutliche Verminderung der Spermahyaluronidase festgestellt werden (85).

Bei Azoo- und Aspermie wird sowohl von einer gewissen Hyaluronidase-Aktivität berichtet (10, 44), als auch von einem vollständigen Fehlen der Hyaluronidase (85).

Verschiedentlich ist jedoch auch ein solches Fehlen der Hyaluronidase bei Spermienanwesenheit beschrieben worden (10, 135, 145).

Die Funktion der Spermahyaluronidase bei Denudation und Imprägnation.

Die Entwicklung bis zur Fermentchemischen Besamungstheorie.

v. BAER, dem es als erstem gelang, die Eizelle richtig zu beschreiben, berichtete schon 1828, dass diese in ein Schleimklümpchen eingebettet sei (9).

Fast hundert Jahre später, 1912, beobachtete dann LONG (114), dass dieses Schleimklümpchen bei den Eiern in der Tube aus einer transparenten, viskosen Flüssigkeit bzw. einem "Gel" besteht, in welches Cumuluszellen (Synonyma: Follikel- oder Granulosazellen) und die Corona radiata - jene Zylinderzellen in der unmittelbaren Umgebung des Eies, die mit ihren Fortsätzen in die, von ihnen produzierte Zona pellucida hineinreichen (BENNINGHOFF: 16) - eingebettet sind.

Gleichzeitig stellte LONG nun aber fest, dass dieses "Gel" in vitro bei Anwesenheit lebender Spermien beseitigt wird und sich die Zellmasse um das Ei in ihre Bestandteile auflöst.

Er führte diesen Effekt auf eine Wirkung der lebenden Spermien zurück und hielt ihn für notwendig, damit das einzelne Spermium in das Ei eindringen könne.

Ähnliches konnten dann 1930 PINCUS (154) und YAMANE (204) unabhängig voneinander in vivo nachweisen. Sie machten sich dabei die Tatsache zunutze, dass bei Kaninchen die Kopulation Aufspringen eines Graafschen Follikels und Ausstossung eines Eies aus demselben bewirkt.

Nachdem sie einen Teil ihrer Kaninchenweibchen von fertilen, einen anderen von sterilen, vasektomierten Böcken hatten decken lassen, untersuchten und verglichen sie die aus der Tube herausgespülten Eier:

solche, die aus einer fertilen Paarung stammten, also mit Spermien im

Ejakulat der Böcke, lagen 2 bis 3 Stunden früher frei und entblösst vor, als die Eier aus jenen sterilen Paarungen, bei denen die Spermien im Ejakulat gefehlt hatten.

In vivo war also die Tube allein in der Lage, die Eizellen von den gesamten, sie umgebenden Zellen zu entblößen, doch durch Anwesenheit lebender Spermien wurde dieser Prozess beschleunigt.

Zur gleichen Zeit gelang es aber auch YAMANE (204 - 207), und das war sein grosser Verdienst, jene LONG'sche in-vitro-Beobachtung auf eine Funktion spermieeigener, thermolabiler Fermente zurückzuführen:

Die gleiche Wirkung erzielte er ebenfalls durch Filtrate von Spermien, die er vorher durch vorsichtiges Erhitzen auf 40 - 45 °C abgetötet hatte. Und da er gleiche Ergebnisse auch mit Pankreas-Extrakten sah, vermutete er eine nicht artspezifische Wirkung eines proteolytischen Fermentes.

PINCUS und ENZMANN (155, 156) kamen kurz danach zu demselben Ergebnis, beobachteten jedoch, dass gereinigtes Trypsin und Ejakulate mit künstlich erhöhter Spermienkonzentration innerhalb von 24 Stunden nicht nur das "Gel" und die gesamte umgebende Zellmasse auflösten, sondern auch die Eizelle selbst.

Im Sperma oder in den Spermien mussten also proteolytische Fermente enthalten sein, die bei einer unphysiologisch hohen Spermienkonzentration das Eiweiss in der Eizelle und in deren Hülle angriffen.

Tatsächlich konnten in letzter Zeit von LUNDQUIST und Mitarbeitern mehrere Proteasen aus dem menschlichen Sperma isoliert werden (117).

Ausserdem konnten PINCUS und ENZMANN (156) 1936 - ähnlich wie bereits zuvor GREEN und WINTERS (75) - eine Abhängigkeit der Befruchtung und der Denudation von der Höhe der Spermienkonzentration feststellen:

Einerseits trat unter einer gewissen kritischen Spermienzahl im Ejakulat eine Befruchtung in vivo nicht mehr ein, was später auch andere Autoren (28, 53, 85, 87, 172) bestätigen konnten.

Andererseits war bei ihren Kaninchen jedoch eine ähnlich grosse Anzahl Spermien, mindestens 20 000 pro cbmm Ejakulat, in vitro zu Denudation und Befruchtung notwendig. (Dies war übrigens die erste tatsächlich in vitro beobachtete Befruchtung: 142).

Aus diesen Ergebnissen zogen sie den Schluss, dass es unter dieser Spermienzahl ganz allgemein auch in vivo zu keiner Befruchtung kommen könne.

Ungefähr in dieselbe Zeit fielen nun aber ebenfalls die oben (s. S. 8) beschriebenen Arbeiten, und nachdem CHAIN und DUTHIE 1939 die Hyaluronidase im Stierhoden nachgewiesen hatten, lag eine Veröffentlichung über die Funktion dieses Fermentes bei der Befruchtung eigentlich in der Luft.

Tatsächlich fanden dann auch 1942 McCLEAN und ROWLANDS (129) und unabhängig davon FEKETE und DURAN-REYNALS (63) eine Beteiligung der Hyaluronidase an der Denudation, erstere bei der Ratte, letztere bei der Maus. Beide Gruppen kamen dabei zu gleichen Ergebnissen und konnten später auch von anderen Autoren bestätigt werden (87, 108, 110, 182):

McCLEANS und ROWLANDS brachten dabei Eier, die sie nach bestimmter Behandlung unreifer Rattenweibchen aus deren Tube erhalten hatten, mit verschiedenen Spermien-, Hoden-, Bakterien- oder Schlangengiftpräparaten zusammen. Es ergab sich eine Freilegung der Eizellen, deren Ausmass in enger Beziehung zu der viskosimetrisch geprüften Hyaluronidaseaktivität dieser Präparate stand.

Als sie die Wirkung der obigen Präparate näher untersuchten, fanden sie, dass diese allem Anschein nach einzig und allein in einer Verflüssigung der periovocytären "Gels" bestand, wodurch die einzelnen Cumuluszellen veranlasst wurden, vom Ei abzufallen.

Obwohl jedoch einige Zellen dem Ei noch anhafteten, nachdem die Reaktion offenbar vollständig verlaufen war, nahmen sie als Endpunkt dieses Prozesses eine komplette Denudation des Eies an; denn jene Zellen liessen sich durch schwaches Bewegen des Glasbehälters ganz leicht entfernen.

Zellen und Eizelle selbst schienen bei diesem Vorgang nicht angegriffen zu werden.

FEKETE und DURAN-REYNALS machten die gleiche Beobachtung, fanden aber noch ausserdem, dass sich das "viskose Gel um das Ei, in welchem die Cumuluszellen eingebettet sind, wie ein Polysaccharidester von hohem Molekulargewicht anfärbt" (1). (Übrigens hat PALLA (147) später eine ähnliche metachromatische Anfärbung in der Follikelflüssigkeit nachweisen können.)

Die Fermentchemische Besamungstheorie von McCLEAN und ROWLANDS.

McCLEAN und ROWLANDS (129) folgerten nun aus diesen ihren Beobachtungen eine Reihe von Hypothesen, die später als "Fermentchemische Besamungstheorie" (JOEL) grosses Interesse und weite Verbreitung gefunden haben:

1. Bei der Denudation der Eizelle müsse es sich um einen spezifischen Effekt der Hyaluronidase handeln, da sich einerseits eine enge Beziehung zwischen Hyaluronidaseaktivität und Denudationseffekt ihrer Präparate gezeigt habe und da es andererseits höchst unwahrscheinlich sei, dass die Denudation der Eizelle auch durch Trypsin oder ein ähnliches proteolytisches Ferment bewirkt werde; denn PINCUS und ENZMAN (s. S. 18) hätten ja mit gereinigtem Trypsin noch zusätzlich zur Zellablösung eine partielle Andauung der Eizelle beobachtet.

Ausserdem sei es aber auch kaum glaubhaft, dass Präparate solch unterschiedlichen Ursprungs alle durch ein anderes aktives Agens verunreinigt sein sollten.

2. Da aber die Hyaluronidase-Präparate eine Verflüssigung des "Gels" bewirkt haben, sei zu vermuten, dass dieses Hyaluronsäure enthalte.
3. Von diesen Voraussetzungen ausgehend, versuchten sie nunmehr jenes altbekannte Phänomen zu klären, dass unter einem relativ hohen Spermiegehalt des Samens eine Befruchtung nicht mehr eintritt:

"Es ist klar, dass die Einführung einer solch grossen Zahl von Spermien erforderlich ist, um sicherzustellen, dass eben ein einzelnes Spermium in das Ei eindringen kann. Wenn aber eine grosse Anzahl in unmittelbarer Nähe des Eies erforderlich ist, dann könnte die Funktion gut die Beibringung einer Hyaluronidasekonzentration sein, die ausreicht, um das Hyaluronsäure-Gel zu verflüssigen und so dem einzelnen wirksamen Spermium das Eindringen in das Ei zu ermöglichen. Daher sollte man an die Möglichkeit denken, dass ein Hyaluronidasemangel gewisse Typen von Sterilität verursachen könnte, für die es bisher keine deutliche Erklärung gab" (McCLEAN und ROWLANDS).

Wenn diese Theorie heute auch zum grossen Teil sicher widerlegt ist und zudem in manch anderen Punkten als sehr fraglich angesehen werden muss, so war es doch der grosse Verdienst von McCLEAN und ROWLANDS, dass sie als erste versucht haben, die Rolle der Hyaluronidase bei den Befruchtungsvorgängen zu klären.

Darüber hinaus aber haben sie damit den Anstoss zu weiteren Experimenten und neuen Erkenntnissen auf dem Gebiet der Befruchtung gegeben.

Neuere Erkenntnisse und Berichtigung dieser Theorie.

Nach CHANG und PINCUS (41), SWYER (186), WALLENFELS (200) und GIBIAN (69) soll die Hyaluronidase nun im Gegensatz zu McCLEAN und ROWLANDS sowie anderen zwar die Cumuluszellschicht ablösen, nicht aber die Corona radiata. Vor allem SWYER (186) und CHANG (41) haben dies in neueren Arbeiten deutlich zeigen können.

CHANG und PINCUS (41) zufolge soll dieser Unterschied in den Angaben dadurch bedingt sein, dass viele Forscher beim Studium der Hyaluronidase-Wirkung nicht klar zwischen den mucösen Cumulusklümpchen und den Corona-radiata-Zellen unterschieden hätten.

Nach genauem Studium der Arbeit von McCLEAN und ROWLANDS (s. S. 19 - 21) kommen wir jedoch zu dem Schluss, dass es sich hier nicht um eine Unklarheit des Ausdrucks gehandelt haben kann; denn letztere geben als Endpunkt ihrer Reaktion klar eine völlige Denudation der Eizelle an.

Dies veranlasst uns zu der Vermutung, dass die Hyaluronidase-Präparate von McCLEAN und ROWLANDS trotz ihres unterschiedlichen Ursprungs eben doch noch ein anderes aktives Agens enthalten haben, ein Agens, das speziell die Ablösung der Corona radiata bewirkte.

Und da sie den gleichen Effekt auch mit Spermienpräparaten erzielten, wird man auch hier im Sperma dieses Agens annehmen müssen.

Interessanterweise scheint aber in vivo eine Freilegung der Eizelle zunächst überhaupt nicht zu erfolgen:

Schon 1935 hatten LEWIS und WRIGHT (113) in noch völlig eingehüllten Eiern Spermien entdeckt;

und nach Untersuchungen von LEONHARD, PERLMAN und KURZROK (110), sowie einer Reihe anderer Autoren (5, 7, 10, 24, 37, 111, 141, 143, 182, 185), gilt es heute als sicher, dass die Befruchtung bereits zu einem Zeitpunkt stattfindet, zu dem sowohl Cumulusmantel wie Corona radiata noch völlig intakt sind.

Also, folgte man, besteht die Funktion der Hyaluronidase bzw. der enorm grossen Spermienzahl hier in vivo aus zunächst unbekannten Gründen nicht in einer sichtbaren Auflösung des Cumulusmantels, sondern nur in einer unsichtbaren Auflockerung des "Gels". Allerdings wurde diese Auflockerung, hervorgerufen allein durch die Hyaluronidase, immer noch als Voraussetzung für ein Eindringen des einzelnen Spermiums betrachtet.

AUSTIN (5, 6) war es dann, der 1948 die Erklärung für diesen Unterschied zwischen der in-vitro und der in-vivo-Wirkung des Spermas gab.

Sowohl er als später auch andere Autoren (23, 24, 26, 39, 41) fanden im Augenblick der Befruchtung bei Ratten und Kaninchen in der gesamten Tube nur eine äusserst geringe Anzahl Spermien (zwischen 14 und 2000).

Daraufhin diskutierten AUSTIN (7) sowie CHANG und PINCUS (37, 39, 41) eine Zeit lang die Frage, ob das einzelne Spermium nicht doch in der Lage sei, allein durch seine Eigen-Hyaluronidase den Cumulusmantel zu durchdringen. Doch dürften sich Beweise dazu wegen experimenteller Schwierigkeiten wohl nur sehr schwer erbringen lassen. Zumal ja

unter einer gewissen kritischen Spermienzahl eine Befruchtung bisher nicht beobachtet werden konnte.

(Das einzige, was man hier heute durch neuere Untersuchungen von CHANG (42) und vor allem von MORICARD (142) weiss, ist die Tatsache, dass eine echte Befruchtung *in vitro* überhaupt nur dann stattfindet, wenn das Ei zuvor in Follikelflüssigkeit, die Spermien aber in uterotubaren Sekreten kultiviert worden sind.)

Bald entsann man sich dann auch wieder alter Untersuchungsergebnisse und Erfahrungen:

So hatten PINCUS und ENZMAN (154) (s. S. 18) schon 1936 feststellen können, dass bei ihren Kaninchen *in vitro* eine Imprägnation oder eine Denudation unter einer Konzentration von 20 000 Spermien pro cbmm Ejakulat nicht mehr eintrat (= 20 Millionen Spermien pro cbmm Ejakulat).

Wenn nun aber *in vivo* bei einer weit geringeren, auf die ganze Tube verteilten Spermienzahl trotzdem eine Imprägnation und Denudation stattfinden konnte, - schlossen 1951 CHANG und PINCUS (41) - so musste *in vivo* folglich eine unbekannte Komponente zusätzlich auftreten, ein "Tubenfaktor".

Diesen Tubenfaktor hatte PINCUS (154) und auch YAMANE (204) ja schon 1930 vermutet (s. S. 18), doch da es selbst 1947 SWYER (185) nicht gelang, mit Tubenextrakten eine Auflösung der Eihülle zu erreichen, nahm man hier eine rein mechanische Bürstenfunktion der Cilien an.

Es war dann erst MANSANI und MAZZELLA (120) im Jahre 1953 vorbehalten, diesen Tubenfaktor sicher nachzuweisen:

In vitro hatten sie insgesamt 76 menschliche Ovocyten aus den Graaf'schen Follikeln nach bestimmter Technik kultiviert, und dann 24 Stunden lang teils frischem menschlichem Sperma oder wässrigen Tuben-Totalextrakten ebensolcher Herkunft, teils Hyaluronidase relativ hohen Reinheitsgrades oder gewissen Kombinationen dieser Präparate unterzogen.

Ihre bemerkenswerten Beobachtungen dabei seien in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Die Beobachtungen von MANSANI und MAZZELLA:

	Eihülle nicht verändert	partielle Denudation des Eies	komplette Denudation des Eies
5 Eier + physiologische Kontrolllösung	100,0 %	---	---
20 Eier + hoch gereinigte Hyaluronidase	35,0 %	65,0 %	---
10 Eier + frisches Sperma	30,0 %	70,0 %	---
21 Eier + wässrige Tubenextrakte	4,7 %	28,6 %	66,7 %
10 Eier + Hyaluronidase + wässr. Tubenextrakte	---	40,0 %	60,0 %
10 Eier + Sperma + wässr. Tubenextrakte	---	20,0 %	80,0 %

Wenn diese obigen Prozentwerte bestimmt auch im einzelnen statistisch noch nicht gesichert sind, dürften sich daraus doch einige Rückschlüsse auf die physiologischen Denudationsvorgänge in vivo ziehen lassen:

1. Zunächst zeigt sich in deutlicher Übereinstimmung mit den Untersuchungsergebnissen von SWYER sowie CHANG (s.S. 21), dass die Hyaluronidase, also das rein mucolytisch wirksame Agens, eine völlige Denudation nicht bewirken kann.
2. Weiterhin aber muss die Tatsache, dass wässrige Tubenextrakte eine komplette Denudation bewirken können, wohl als Bestätigung von PINCUS sowie YAMANE (s.S. 17 - 18) gewertet werden. Jene hatten schon 1930 beobachtet, dass die Tube allein in der Lage ist, die Eizelle restlos zu entblößen. Allgemein dürfte dieser Effekt also

durch Tubensekrete und eine Bürstenfunktion der Cilien (s. S. 23) bewirkt werden.

3. Anwesenheit von Sperma beschleunigt ausserdem diese Denudation um 2 - 3 Stunden (s. S. 18 - 18) und scheint sie obendrein noch sicherzustellen (s. Prozentwerte S. 24).
4. Verschiedenen Autoren nach zu schliessen, bewirken auch Spermapräparate oder Spermienfiltrate allein eine völlige Denudation (s. S. 17 - 20).
5. Als vorläufig ungeklärt muss jedoch die Frage angesehen werden, ob Tubensekrete oder Sperma auch in jenen physiologischen Konzentrations-Verhältnissen, wie sie in der Tube herrschen, jedes allein für sich in der Lage sind, die Eizelle freizulegen.
6. Offen bleibt bei beiden ebenfalls noch die Frage nach der verantwortlichen Wirkungskomponente; denn nachdem das reine Ferment Hyaluronidase keine völlige Denudation hervorrufen kann, müssen hier sicher noch andere Agentien mitwirken. Interessanterweise konnte bisher überhaupt keinerlei Hyaluronidase-Aktivität in den Tuben nachgewiesen werden (s. u. S. 28).
So wird man sich denn fragen müssen, ob hier in Tubenextrakten und Sperma nicht doch gewissen Proteasen eine Bedeutung zukommt, wie sie ja seinerzeit von YAMANE für die Denudation der Eizelle verantwortlich gemacht worden sind, und bisher wenigstens im Sperma nachgewiesen werden konnten (s. S. 18).

Daraus ergeben sich aber gerade für die eigentlichen Imprägnationsvorgänge einige entscheidende Folgerungen:

1. Bis heute liegt noch kein exakter Beweis vor, dass das "Gel" um das Ei überhaupt aus reiner Hyaluronsäure bzw. deren Estern besteht, wie so oft behauptet (s. S. 20-21). Liegt nicht auch hier, wie so oft im Organismus, die Hyaluronsäure zusammen mit Proteinen vor? Unter diesen Umständen könnten dann auch spermieneigene, proteolytische Fermente dem Spermium einen Weg durch das "Gel" bahnen, parallel zum Spreading in der Haut (s. S. 9 - 10), oder gar hypothetische Proteasen in den Tubensekreten.

2. Wenn es heute auch als sicher gilt, dass die Befruchtung generell zu einem Zeitpunkt stattfindet, zu dem die gesamte Eihülle noch restlos intakt ist (s.S. 21-22), so wird man sich doch die Frage vorlegen müssen, ob das einzelne Spermium nicht auch noch in ein, bereits durch Tubensekrete entblößtes Ei eindringen und dieses befruchten kann. Dies würde bedeuten, dass dieses Spermium das "Gel" nicht zu durchdringen bräuchte, und dass eine Befruchtung auch ohne Hyaluronidase möglich wäre.

Voraussetzung dazu wäre allerdings, dass auch das denudierte Ei noch befruchtungsfähig ist.

3. Ausserdem haben aber verschiedene Autoren berechtigten Grund zu der Annahme, dass die Hyaluronidase nur aus toten Spermien herausdiffundieren kann (s.S. 15).

Andere Autoren, wiederum, fanden zum Zeitpunkt der Befruchtung nur eine äusserst geringe Anzahl Spermien in der Nähe der Eizelle (s.S. 22).

Trifft dies zu, so muss angenommen werden, dass das einzelne befruchtende Spermium eben tatsächlich ohne Hyaluronidase in die Eizelle eindringen kann.

4. Welche Funktion käme aber dann der Eigenhyaluronidase dieses Spermiums zu, nachdem dieses in die Eizelle eingedrungen ist?
5. GOSSLER (73) hat im Jahre 1955 bereits erstmals darauf hingewiesen, dass die Einwirkung der Spermahyaluronidase auf den Ovocumulus kaum als deren Hauptfunktion aufgefasst werden darf, nachdem das Wirkungsoptimum dieses Fermentes von pH 4,5 - 4,8 im utero-tubaren Bereich niemals erreicht werden dürfte.

Alle diese ungeklärten Fragen, aber, dürften doch zur Vorsicht mahnen gegenüber der Hypothese einiger Autoren (s.u.), durch Hyaluronidase-Inhibitoren, also durch Inaktivierung der Spermahyaluronidase, könne eine Befruchtung verhindert werden.

Doch so unklar die Rolle der Spermahyaluronidase auch heute noch ist, mit Beziehungen zwischen ihr und der Eihülle muss gerechnet werden; denn Eier solch anderer Tiergattungen, denen die Hyaluronidase fehlt, sind auch nicht von einem Cumuluszell-Mantel umgeben (51, 63, 169).

Die intraspermale Funktion der Spermahyaluronidase.

ROWLANDS (172) berichtete 1944 erstmals, dass er durch Zusatz von stark hyaluronidasehaltigem Samenplasma die Befruchtungsfähigkeit verdünnter Kaninchen-Ejakulate um das Sechsfache hätte steigern können.

Dies hätte - der Theorie von McCLEAN und ROWLANDS (s.S. 20) entsprechend - bedeutet, dass sich Oligospermie durch einen Zusatz von Hyaluronidase zum Sperma kompensieren lasse. Und tatsächlich schienen auch andere Untersuchungsergebnisse (174) und klinische Beobachtungen (77, 87, 98, 99, 100, 173), vor allem von KURZROK, für diese Annahme zu sprechen.

Doch zeigte sich sehr bald, dass ein solcher Hyaluronidase-Zusatz weder am Denudations-, noch am Imprägnationsprozess beteiligt sein kann:

1. In den Tuben liess sich selbst auch nach intrauteriner Injektion keinerlei Hyaluronidase-Aktivität nachweisen (111, 188, 201).
2. EMMENS und SWYER (55) konnten weiterhin zeigen, dass die Spermien nicht in der Lage sind, künstlich beigegebene Hyaluronidase zu absorbieren und sie unter Umständen auf ihrer Wanderung in die Tuben mitzunehmen.
3. Ausserdem aber hat CHANG (35, 36, 38) einen ähnlichen Effekt wie ROWLANDS auch mit Samenplasma und anderen, die Lebensfähigkeit der Spermien verbessernden Stoffen erreicht.

So blieben die Erfolge von ROWLANDS lange Zeit sehr zweifelhaft, zumal sich auch die Stimmen mehrten, die weder im Tierversuch (11, 35, 38, 45, 55, 76, 79, 136, 140, 187), noch in der klinischen Anwendung (38, 191) ein Ansteigen der Befruchtungsrate unter einem Hyaluronidase-Zusatz zu oligospermen Ejakulaten beobachtet hatten.

KEPP, VASTERLING und HEINRICHS (92, 196) haben nun in den letzten Jahren beobachtet, dass künstlich zugesetzte Hyaluronidase die Motilität und Lebensdauer der Spermien beeinflusst. GOSSLER (74) konnte daraufhin sogar zeigen, dass ein Hyaluronidase-Zusatz zum Sperma eine deutliche Erhöhung des Spermienstoffwechsels bewirkt.

Wenn es sich hier vorläufig auch nur um die Wirkung einer zusätzlichen Hyaluronidasegabe handelt, so muss aus diesen Tatsachen wohl doch geschlossen werden, dass der Hyaluronidase auch eine intraspermale Funktion zukommt.

Eine medikamentöse Hemmung der körpereigenen Hyaluronidase, (s.u.), hätte demnach unter Umständen also Auswirkungen auf den Stoffwechsel, die Motilität und die Lebensdauer der Spermien.

Die Funktion der Spermahyaluronidase bei der Ernährung der Frucht.

EICHENBERGER (53) und NIENDORF (144) haben auch noch eine Beteiligung der Hyaluronidase an der Frühentwicklung des befruchteten Eies erörtert.

NIENDORF ging dabei von den folgenden Voraussetzungen aus:

Hyaluronsäure, Chondroitinschwefelsäure usw., also die Substrate der Hyaluronidase, bilden den Hauptbestandteil des extraembryonalen Mesenchyms.

Nachdem aber dieses extraembryonale Mesenchym im Ei noch vor dessen Nidation auftritt, müssen jene Mucopolysaccharidsäuren auf andere Art, als durch den mütterlichen Stoffwechsel, in das Ei gelangen.

Er zog nun den Schluss, dass es Aufgabe der Spermyhyaluronidase sei, in der Tube die Hyaluronsäure (bzw. die entsprechende Mucopolysaccharidsäure) des periovocytären "Gels" in gut dialysable Monosaccharide zu depolymerisieren.

D-Glucuronsäure und N-Acetyl-D-Glucosamin, die Monosaccharidbausteine der Hyaluronsäure (s.S. 11), seien aber beispielsweise dialysabel, und das Glucosamin müsse als Aufbaustoff sehr wichtig sein, da es einen Bestandteil vieler Eiweisskörper darstelle.

Sei nun bei Oligo- oder Hypospermie das Angebot dieser Monosaccharide in der Tube infolge der geringeren Spermien-, und damit Fermentmenge, nicht ausreichend, so müsste nach Meinung NIENDORFS das Ei entweder gleich zugrunde gehen, oder es käme zu Entwicklungsstörungen und späteren Aborten.

Tatsächlich haben NIENDORF (145) und TYLER (193) in der Folgezeit mehrere Fälle von Spontanaborten bei Oligospermie des männlichen Partners beobachten können.

Zu dieser einleuchtenden Theorie NIENDORF's sei folgendes bemerkt:

1. Bis heute fehlt noch jeder Beweis, dass die Eizelle in der Lage ist, aus jenen Monosacchariden, wie sie die Hyaluronidase liefert, Hyaluronsäure oder ähnliche Mucopolysaccharidsäuren zu synthetisieren.
2. Es erscheint uns sehr fraglich, ob ein so bedeutender Vorgang, wie ihn die Eiernährung darstellt, allein durch die immerhin sehr langsame und ziemlich zufällige Diffusion sichergestellt werden kann. Es wäre zu überlegen, ob hierbei nicht jenen Corona-radiata-Zellen, die ja mit ihren Fortsätzen in die Zona pellucida hineinreichen (s. S. 17), schon vor der völligen Denudation eine entscheidende Bedeutung zukommt.
3. Ausserdem muss es vorläufig noch dahingestellt bleiben, ob jenen Spontanaborten wirklich ein spezifischer Hyaluronidasemangel zugrunde lag (150).

Von KURZROK (100) wird die Spermahyaluronidase schliesslich auch noch mit der Nidation des Eies in Zusammenhang gebracht, doch fehlt hier ebenfalls noch jeder Beweis.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, dass die Spermahyaluronidase des männlichen Partners eng an die Befruchtungsvorgänge gekoppelt zu sein scheint.

Man wird dabei jedoch keinesfalls übersehen dürfen, dass es sich bei den Vorstellungen über die Funktion des Spermahyaluronidase wegen der experimentellen Schwierigkeiten weitgehend noch um eine Hypothese handelt.

Immerhin, aber, wird man bei einer medikamentösen Hemmung der Aktivität dieser Spermahyaluronidase (s.u.) möglicherweise mit antikonzeptionellen oder abortiven Auswirkungen rechnen müssen.

Ob allerdings nicht auch noch im weiblichen Genitaltrakt - insbesondere in den utero-tubaren Sekreten - eine gewisse, für die Befruchtung bedeutsame Eigenhyaluronidase vorkommt, muss vorläufig noch dahingestellt bleiben.

Bisherige Versuche, durch medikamentöse Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität die Fertilität zu beeinflussen.

Im Jahre 1947 veröffentlichte MEYER (131) erstmals die Beobachtung, dass in vitro bei Anwesenheit eines bestimmten Hesperidin-Derivates trotz Hyaluronidase die gesamte perioocytaire Zellschicht völlig intakt geblieben sei, ja, dass sich sogar mehr "tissue cement", also Gel, gebildet habe. Beides, die intakte Zellschicht und das zusätzliche Gel hätten sich dabei für die eindringenden Spermien als unüberwindbares Hindernis erwiesen.

Ein Jahr später, 1948, berichteten darauf PINCUS, PIRIE und CHANG (157), dass Hyaluronsäurenitrat - ein echter Hyaluronidase-Inhibitor, der in vitro ebenfalls eine Denudation der Eizelle durch Hyaluronidase ver-

hindert hatte - in vivo die Fertilität von Kaninchen beeinflusst hätte, und zwar bei normaler Kohabitation, wie auch bei künstlicher Einführung des Spermas. Jedenfalls seien Geburtenrückgang und Konzentration des verabreichten Inhibitors zueinander in gewissem Verhältnis gestanden.

Beide Arbeiten, die von MEYER und die von PINCUS, PIRIE und CHANG, erscheinen heute teilweise als äusserst zweifelhaft (s.u.), doch damals waren sie der Ausgangspunkt zu weiteren Untersuchungen auf diesem Gebiet; zumal zu jener Zeit auch die Fermentchemische Besamungstheorie von McCLEAN und ROWLANDS (s.S. 20-21) noch als voll gültig angesehen wurde.

So machten MARTIN und BEILER (121, 123) in den Jahren von 1948 bis 1952 darauf aufmerksam, dass Hesperidin-Phosphat- ein wasserlöslicher Inhibitor, den sie durch Phosphorylierung des Hesperidins entwickelt hatten, jenes von SZENT-GYÖRGYI aus dem Citrin (Vitamin P) isolierten Flavanons (13) - einen stark hemmenden Einfluss auf die Fertilität von weissen Mäusen und Ratten habe:

Dabei verabreichten sie das Mittel während einer siebentägigen "Sättigungsperiode" sowohl an männliche wie an weibliche Tiere und setzten diese darauf ca. 40 Tage lang unter fortlaufender Medikation mit unbehandelten Tieren zur Paarung zusammen, und zwar folgendermassen:

unbehandelte Weibchen und behandelte Böcke
 behandelte Weibchen und unbehandelte Böcke
 behandelte Weibchen und behandelte Böcke
 unbehandelte Weibchen und unbehandelte Böcke.

Die von MARTIN und BEILER bei diesen Paarungen beobachtete Geburtenrate war sensationell und erregte in der ganzen Welt grosses Aufsehen:

Bei denjenigen Kontrollpaarungen, wo beide Tiere unbehandelt blieben und in jenen Fällen in denen nur die Böcke das Hesperidin-Phosphat bekommen hatten kam es in 100 % zur Schwangerschaft.

Dort jedoch, wo die Weibchen das Mittel bekommen hatten, sank die Schwangerschaftsrate auf 11 bis 17 %.

Durch Hemmung der körpereigenen Hyaluronidase schien also die Fertilität tatsächlich beeinflusst zu werden! Allerdings blieb die Wirkung des Mittels seltsamerweise speziell auf die weiblichen Tiere beschränkt.

Um so grösser war dann die Überraschung, als andere Forscher das Hesperidin-Phosphat ebenfalls in Tierversuchen auf seine diesbezügliche Wirkung überprüften; obwohl sie im wesentlichen die gleiche Methode benutzten, und obwohl auch sie weisse Ratten bzw. Mäuse verwandten, erreichten sie trotzdem nicht annähernd den von MARTIN und BEILER angegebenen Geburtenrückgang, nicht einmal mit solchen Präparaten, die sie von MARTIN selbst zur Verfügung gestellt bekamen.

Ja, CHANG und PINCUS (42) führten sogar zuvor gedeckten Kaninchen zum mutmasslichen Zeitpunkt der Imprägnation eine 1 %ige Lösung von MARTIN's Hesperidin-Phosphat über die Fimbrien in die Ampullen beider Tuben ein, - alle anderen Autoren hatten das Mittel oral oder intraperitoneal verabreicht - doch waren trotzdem alle Eizellen zu 100 % befruchtet.

Die nachfolgende Tabelle (s.S. 33) zeigt nun aus Gründen der Übersicht alle uns bekannten Versuche, im Tierexperiment mit Hesperidin-Phosphat die Fertilität zu beeinflussen:

Wie aus nachfolgender Tabelle ersichtlich, konnten ähnliche Resultate wie MARTIN und BEILER, nur noch DÖRING und BIERWAG (19) beobachten, die 1953 an der Tübinger Universitäts-Frauenklinik ein Hesperidin-Phosphat der Promonta-AG. überprüften:

Dabei verwendeten sie nur solche Ratten, die sich in vorherigen Paarungen als sicher fertil erwiesen hatten. Da sie nun voraussetzten, dass diese Tiere auch in weiteren Paarungen fertil wären, verzichteten sie bei den entscheidenden Untersuchungen auf eine nochmalige Kontrollpaarung un behandelter Ratten, und nahmen als normale Schwangerschaftsrate ihrer Tiere eine solche von 100 % an.

Als sie darauf behandelte und un behandelte Böcke und Weibchen untereinander zur Paarung brachten - das Hesperidin-Phosphat injizierten sie

Tieruntersuchungen über die fertilitätsbeeinflussende Wirkung des Hesperidin-Phosphates.

Autor:	Versuchstiere	Dosis mg/kg/Tag		Beobachtete Schwangerschaften bei:					
				oral	intra- peri- toneal	unbehandelte Weibchen + unbehandelte Männchen	unbehandelte Weibchen + behandelte Männchen	unbehandelte Weibchen + unbehandelte Männchen	behandelte Weibchen + behandelte Männchen
CHANG und PINCUS (42)	Ratten	100	-	-	-	100,0 %	--	--	81,8 %
	Ratten	-	-	20	-	100,0 %	--	--	100,0 %
	Ratten	-	-	50	-	-	33,3 %	34,3 %	66,6 %
	Ratten	-	-	2 x 25	-	-	6,3 %	7,1 %	18,8 %
MARTIN (120)	Mäuse	-	-	20	-	? 100,0 %	? 100,0 %	11,0 %	11,0 %
	Ratten	100	-	-	-	? 100,0 %	--	20,0 %	---
MARTIN und BEILER (123)	Ratten	-	-	20	-	? 100,0 %	--	17,0 %	---
	Mäuse	200	-	-	-	-	--	--	90,0 %
E. MERK-AG. (84)	Mäuse	-	-	40-50	-	40,0 %	40,0 %	60,0 %	50,0 %
	Mäuse	50-70	-	-	-	67,5 %	68,7 %	80,0 %	73,3 %
	Ratten	100-125	-	-	-	50,0 %	--	--	53,3 %
	?	?	?	?	?	kein Rückgang der Schwangerschaften			
PARKES (148, 149)	Mäuse	-	-	20	-	100,0 %	50-83 %	60-67 %	66-80 %
SIEVE (179)	Mäuse	150	-	-	-	91,7 %	--	--	100,0 %
THOMPSON, STURTEVANT und BIRD (192)	Mäuse	150	-	-	-	91,7 %	--	--	100,0 %

während der 10-tägigen Sättigungsperiode und der ebenso langen Paarungszeit einmal, bzw. zweimal täglich intraperitoneal - bekamen sie nur in 30 bis 66 %, bzw. 6 bis 19 % sämtlicher Paarungen eine Schwangerschaft.

So ist bis heute die Wirkung des Hesperidin-Phosphat auf die Fertilität der weissen Ratte oder Maus sehr umstritten geblieben. Doch genau so unklar ist der Effekt dieses Mittels beim Menschen:

SIEVE (179) verabreichte in den Jahren 1949 bis 1952 an insgesamt 300 Ehepaare im Alter von 17 bis 43 Jahren mit mindestens einem eigenen Kind Hesperidin-Phosphat in oralen Dosen von 5 mg/kg/Tag. Die Behandlungsdauer erstreckte sich je nach Fall auf 3 bis 30 Monate. Er berichtet nun, dass trotz angeblich regelmässigen Ehelebens nur in 2 Fällen eine Schwangerschaft eingetreten sei. In den Fällen aber, in denen es nach Abbruch der Behandlung zu einer Schwangerschaft kam, verlief diese bei 96,4 % völlig normal, die Kinder waren alle gesund. Diese Resultate waren sensationell, zumal die zwei restlichen Ehepaare, bei denen es trotzdem zu einer Geburt gekommen war, auf Befragen zugaben, ihre Tabletten nicht regelmässig eingenommen zu haben.

Aber bereits ein Jahr später berichteten dann auf dem Norddeutschen Gynäkologen-Kongress 1953 SCHULZ (197) und Mitarbeiter aus der Frauenklinik Hamburg-Altona, dass sie SIEVE's Ergebnisse nicht bestätigt gefunden hätten.

So beobachtete allein WESTING (202) bei 8 Ehepaaren schon wenige Wochen nach Beginn der Behandlung mit Hesperidin-Phosphat in 25 % der Fälle den Eintritt einer Schwangerschaft.

Fragt man sich nun, warum jener, von MARTIN und BEILER (121, 123), DÖRING und BIERWAG (19), sowie von SIEVE (179) beobachtete Rückgang der Schwangerschaftsrate nicht auch von anderen Forschern reproduziert werden konnte, so kommen einem doch Bedenken, ob diese angegebenen Prozentwerte wirklich auf einer Hemmung der Aktivität der Spermahyaluronidase beruht haben:

1. Bis heute liegt noch kein Beweis vor, dass mit Hesperidin-Phosphat in vivo tatsächlich die Spermahyaluronidase inaktiviert werden kann.

Aber gerade dieser Beweis müsste sich doch relativ leicht erbringen lassen.

2. Äusserst zweifelhaft erscheint es auch, dass dieser Effekt durch so minimale Dosen (oral: 5 mg/kg/Tag; intraperitoneal: einmal täglich 20 mg/kg bis zweimal täglich 25 mg/kg) erreicht worden sein soll, wo die Hyaluronidase doch über den ganzen Körper verteilt ist (s.o.). Einen Anhalt dafür aber, dass das Hesperidin-Phosphat speziell im Hoden oder in den utero-tubaren Sekreten gespeichert wird, gibt es bis jetzt nicht.
3. Einer Arbeit MARTIN's zufolge (122), sollen chromatographische Untersuchungen ergeben haben, dass es sich bei dem Hesperidin-Phosphat um ein Gemisch mehrerer unterschiedlich phosphorylierter Hesperidin-Komponenten handelt.

Je nach Phosphorylierungs-Methode hätten diese Gemische die einzelnen Komponenten nun in differenter Menge enthalten. So vermutete MARTIN, - ähnlich wie zuvor schon SIEVE (179) - dass nur ein ganz bestimmtes Hesperidon-Phosphat in dem Gemisch jene Erfolge bewirkt hätte und dass möglicherweise der unterschiedliche Gehalt an dieser Komponente für die widersprechenden Wirkungseffekte, auch des von ihm selbst hergestellten Präparates verantwortlich sein könnte.

Doch obwohl inzwischen über 5 Jahre vergangen sind, konnten wir eine weitere Arbeit MARTIN's oder eines seiner Mitarbeiter über diese entscheidende Komponente nicht finden.

4. Dies, sowie unsere eigenen Tieruntersuchungen und Angaben namhafter Zoologen über die Fertilität der weissen Laboratoriumsmäuse und -ratten, veranlassten uns zu der Vermutung, dass jener, von MARTIN und BEILER, bzw. von DÖRING und BIERWAG erzielte Geburtenrückgang nicht unbedingt einen Effekt des verabreichten Hesperidin-Phosphates darzustellen braucht, sondern dass es sich bei den betreffenden Weibchen möglicherweise um eine ganz normale, naturbedingte, und periodisch auftretende Sterilität gehandelt haben kann (s.u.).
5. Ausserdem kann aber von einem eigentlichen Rückgang der Schwangerschaft- bzw. Geburtenrate unter Hesperidin-Phosphat in diesen Fällen auch aus anderen Gründen kaum gesprochen werden:

- a) Bei MARTIN und BEILER muss die mit 100 % angegebene Schwangerschaftsrate der unbehandelten Kontrolltiere als "auffrisiert" betrachtet werden. Denn diese 100 % erreichten sie dadurch, dass sie bei der Berechnung alle diejenigen Käfige wegliessen, in denen es zwischen den unbehandelten Kontrolltieren zu keiner Schwangerschaft kam.

Eine solche Zahlen-Manipulation erscheint uns aber nur dann gerechtfertigt, wenn die Sterilität des unbehandelten Bockes exakt nachgewiesen werden konnte. Da dieser Nachweis jedoch fehlt, muss angenommen werden, dass die tatsächliche Schwangerschaftsrate weit unter den, von ihnen angegebenen 100 % lag.

- b) DÖRING und BIERWAG, dagegen, verzichteten auf eine Kontrollpaarung unbehandelter Tiere, da sie nur solche Tiere verwandten, die sich bereits im voraus als fertil erwiesen hatten. Aus dieser Tatsache schlossen sie, dass diese Tiere, Männchen wie Weibchen, nun auch bei den weiteren Paarungen ebenfalls zu 100 % fertil sein müssten. Doch dürfte dies, was die Weibchen anbetraf, äusserst fraglich sein (s.u.).
- c) SIEVE, schliesslich konnte seinen Versuchspersonen eine Placebo-Behandlung kaum zumuten. Aus diesem Grunde müssen wohl auch seine Erfolge als zweifelhaft betrachtet werden, zumal hier auch sicher der Wunsch nach Konzeptionsverhütung mitgespielt haben mag.

6. Dass durch die bisher angewandte Hesperidin-Phosphat-Dosierung ein spezifischer, fertilitätsbeeinflussender Effekt erzielt worden sein soll, ist aber auch deshalb unwahrscheinlich, da auch bei anderen Stoffen, die in vivo die Hyaluronidase hemmen sollten, diesbezüglich keinerlei Wirkung beobachtet werden konnte. Ja, nicht einmal Rehibin, ein synthetischer Hyaluronidase-Inhibitor, dessen Hemmwirkung in vitro klar nachgewiesen wurde, beeinflusste im Tierversuch die Fertilität (s. Tabelle S. 37).

In der nun folgenden Tabelle werden alle uns bekannten Tierversuche aufgeführt, bei denen man durch andere Substanzen als Hesperidin-Phosphat auf dem Wege der Hyaluronidase-Hemmung die Fertilität zu beeinflussen trachtete:

<u>Testsubstanz</u>	<u>Rückgang der Schwangerschaften</u>	<u>Autor</u>
Aesculin	kein	MILLMAN und HARTMANN (138)
Arbutin	kein	
Cirantin	mäßig	GOSH, MUKHERJEE und BANERJEE (72)
phosphoryl. Citrin	mäßig	SELIGER (177)
Dihydro-Quercetin	kaum	THOMPSON, STURTEVANT und BIRD (192)
Hesperidin-methyl-chalcone	kein	
Hyaluronsäurenitrat	mäßig	PINCUS, PIRIE und CHANG (157)
Rehibin	kein	PARKES (148)

Bei den in der Tabelle angeführten Substanzen handelt es sich im einzelnen um folgende:

Aesculin: ein Flavonoid in Blättern und Rinde des Rosskastanienbaumes mit vielbeschriebenem Vitamin-P-Effekt (124). (Weitere Einzelheiten haben MILLMAN und HARTMAN (138) weder hier noch beim nächsten Präparat mitgeteilt.)

Arbutin: ?

Cirantin: Eine noch wenig bekannte Substanz, die neu aus der Schale von Citrusfrüchten isoliert wurde (72).

Phosphoryliertes Citrin (Hoechst-AG.): Vermutlich ein phosphoryliertes Hesperidin-Eriodictin-Rutin-Gemisch.

Dihydro-Quercetin: Ebenfalls ein Flavonoid, welches die Hyaluronidase in vivo allerdings stärker gehemmt haben soll, als Hesperidin-Phosphat und die anderen derartigen Substanzen (192).

Hesperidin-methyl-chalcone: Obwohl dieses Flavonoid bisher weder in vitro noch in vivo eine Hemmung der Hyaluronidase bewirkt hat, wurde es von den Autoren doch wegen seiner strukturellen Verwandtschaft zum Hesperidon-Phosphat getestet.

Hyaluronsäurenitrat: Ein erwiesener Hyaluronidase-Inhibitor, der in vitro MARTIN's Hesperidin-Phosphat an Hemmwirkung weit übertroffen haben soll (42).

Die anfänglich so vielversprechenden Ergebnisse, welche PIRIE und CHANG im Jahre 1948 mit dieser Substanz erzielten, müssen sich später als unspezifisch herausgestellt haben, denn CHANG schreibt in einer Arbeit aus dem Jahre 1956 (40), die fertilitätsbeeinflussende Wirkung der Hyaluronidase-Inhibitoren sei doch sehr zweifelhaft.

Rehbin: Ein synthetischer, sicher erwiesener Hyaluronidase-Inhibitor. (148).

So ist es also auch bis heute noch unklar, ob sich durch Hemmung der Hyaluronidase tatsächlich die Fertilität beeinflussen lässt, und ob bisher überhaupt jemals eine solche spezifische Beeinflussung erreicht worden ist.

Doch gerade deswegen hielten wir es für notwendig, den Rosskastanienextrakt "Venostasin" auf eine fertilitätsbeeinflussende Wirkung hin zu überprüfen.

Der Rosskastanienextrakt "Venostasin" und dessen Einfluss auf die Hyaluronidase-Aktivität.

Die erste Rosskastanie soll angeblich gegen Ende des 16. Jahrhunderts nach Mitteleuropa gebracht worden sein (124) und im Jahre 1708 beschrieb bereits der Franzose TABLET ihre therapeutische Wirkung bei schlechter Blutzirkulation (124). Seltsamerweise blieb das medizinische Interesse lange Zeit auf Frankreich beschränkt, wo sich um 1900 besonders ARTAULT (2) und später CHARRONAT (43) und LAVOLLAY (104) grosse Verdienste um die Verwendung der Rosskastanie in der Medizin erworben haben.

In Deutschland wurde vor ungefähr 10 Jahren nun das parenteral anwendbare "Venostasin" entwickelt:

Laut Angaben der Herstellerfirma (198) handelt es sich dabei um einen Extrakt aus Rosskastaniensamen, also den bekannten braunen "Kastanien", bei dem darin enthaltene Saponine wegen ihrer hämolytischen Wirkung bis auf einen unschädlichen Rest mit Cholesterin ausgefällt wurden. Aus therapeutischen Gründen erhielt dieser Extrakt noch einen Zusatz von ca. 0,5 mg/ccm Vitamin B₁.

Grosse Unklarheit herrscht noch über die Pharmakologie des Venostasin:

In den Rosskastaniensamen soll als Wirkstoff in erster Linie ein Glykosid-Komplex in Frage kommen, bestehend aus verschiedenen Flavonen und einem Saponingemisch Aescin. Da es sich beim Venostasin aber um einen praktisch saponinfreien Extrakt handelt, dürfte seine therapeutische Wirkung hauptsächlich diesen Flavonen zuzuschreiben sein. Ob jedoch dem Saponinrest noch eine Bedeutung zukommt, und wie das Vitamin B₁ in die Wirkungsweise des Extraktes eingreift, ist noch nicht geklärt.

Aesculin (s.S. 37), Aesculetin, Quercetin und Quercitrin, in vielen Arbeiten als Träger der pharmakologischen Wirkung dieses Präparates beschrieben, spielen aber sicher keine Rolle, nachdem nachgewiesen wurde, dass die Samen der Rosskastanie diese Substanzen nicht enthalten (124, 198).

Über die Wirkung dieses injizierbaren Venostasin berichtete 1951 erstmals RATSCHOW (159):

Nachdem in zahllosen Tierexperimenten und Selbstversuchen keinerlei Reizerscheinungen oder morphologische Organveränderungen festzustellen waren, hatte er das Präparat einem umfangreichen Krankengut verabreicht und dabei einen klaren Vitamin-P-Effekt beobachtet.

Seine beiden Assistenten PERLICK und BÖDECKER konnten diese Beobachtung sogar experimentell objektivieren (151). Neben einer Normalisierung pathologisch erhöhter Kapillarpermeabilität - also der "Durchlässigkeit der Kapillarwand für Wasser mit echt und unecht gelösten Stoffen" (Küchmeister) - fanden sie einen Anstieg der Kapillarresistenz - also des Widerstandes der Kapillarwand gegen den Durchtritt von Blutkörperchen.

Dies konnte in der Folgezeit auch von anderen Autoren bestätigt werden (70, 95, 125, 130, 175).

Die Wirkungsweise des Venostasin bei diesem Effekt vermuteten einige Autoren in einer Hemmung der körpereigenen Hyaluronidase, da diese in Kapillaren und Bindegewebe die Viskosität und somit abdichtende Wirkung der Zwischenzellkittsubstanz verringern sollte (s.S. 7 - 9).

DURAN-REYNALS (50, 51), AYLWARD (8) sowie CHAMBERS und ZWEIFACH (33) hatten ja gezeigt, dass Stierhodenextrakte, also Hyaluronidase-Präparate, nach intravenöser Injektion die Kapillarpermeabilität erhöhen und die Kapillarresistenz vermindern.

ROCHA e SILVA (170), HÜBNER (82) sowie vor allem BENDITT und Mitarbeiter (15, 107) haben aber nun im Gegensatz dazu klar zeigen können, dass hochgereinigte, also ausschliesslich mucolytisch wirksame Hyaluronidase-Präparate keinen Einfluss auf das Kapillargeschehen haben.

Dementsprechend muss auch das Venostasin im Kapillarbereich einen anderen Weg beschreiten als vermutet. Folglich lässt sich hieraus auch keinerlei Anhalt für Beziehungen zwischen dem Venostasin und der körpereigenen Hyaluronidase ableiten.

Ausserdem scheint das Venostasin aber auch noch das Spreadinggeschehen (s. S. 7 - 9) zu beeinflussen:

GIGGLBERGER und KLEIBEL (71) fanden nach intravenöser Venostasinverabreichung eine deutlich verzögerte Resorption intradermal injizierter Kochsalz- oder Hyaluronidasequaddeln. Daraus zogen nun GIGGLBERGER und KLEIBEL den Schluss, dass das Venostasin die Hyaluronidase inaktiviere. Die Tatsache aber, dass auch bei Kochsalzquaddeln die Resorptionsdauer verlängert war, sei nur ein Beweis dafür, dass durch das Venostasin eben auch die körpereigene Hyaluronidase gehemmt werde.

Nachdem es sich aber bei dem Spreading um einen äusserst komplexen Vorgang handelt - man kennt ja heute auch noch eine ganze Reihe mucolytisch inaktiver Spreadingfaktoren - und da vor allen Dingen BÜSING (27) dem Venostasin in vitro nur eine sehr minimale Hemmwirkung nachweisen konnte, scheint uns diese These von GIGGLBERGER und KLEIBEL doch ziemlich zweifelhaft.

Doch wäre eine indirekte Hyaluronidase-Hemmung durch einen gewissen "Relaismechanismus" im Körper (vgl. Hormone S. 13 - 14) immerhin möglich.

Aus diesem Grunde aber schien es angebracht, das Venostasin im Tierversuch auf seine fertilitätsbeeinflussende Wirkung zu überprüfen. (DÖRING).

Eigene Untersuchungen über den Einfluss von Venostasin auf die Fertilität der weissen Ratte.

Mögen es in der Hauptsache auch noch so gewagte und zum Teil fragliche Thesen sein, die uns zu unseren Untersuchungen veranlasst haben, in den entscheidenden Punkten sind sie bisher unwiderlegt geblieben.

So stellten wir uns denn die Aufgabe, an Hand der seinerzeit von DÖRING und BIERWAG (19) benutzten Methode (vgl. S. 32) den Einfluss des Venostasin auf die Fertilität, die Ovarialfunktion und die morphologische Struktur des Hodenkeimepithels bzw. des Cumulus oophorus an der weissen Ratte zu untersuchen (DÖRING).

Dementsprechend gliedern sich unsere Versuche in die folgenden Abschnitte:

- A Untersuchung der Fertilität unserer Ratten in den Paarungsreihen A1, A2 und A3, sowie Auslese der fertilen Tiere.
- B Untersuchung der Fertilität dieser zum Teil mit Venostasin behandelten Auslese-Tiere in den Paarungsreihen B1, B2, B3 und B4.
- C Überprüfung der Ovarialfunktion vor, während und nach Verabreichung von Venostasin.
- D Histologische Organuntersuchung auf spezifische morphologische Veränderungen.

Die Versuchsbedingungen.

Unsere Untersuchungen wurden an insgesamt 224 weissen Albinoratten, 72 männlichen und 152 weiblichen Tieren, angestellt. Dabei entstammten diese leider nur zu einem geringen Teil der klinikeigenen Tierzucht; die Mehrzahl der Tiere musste vom Händler bezogen werden.

Aus diesem Grunde kann hier also keinesfalls von einem homogenen Tierstamm gesprochen werden (s. u.).

Das durchschnittliche Gewicht der Böcke betrug bei Versuchsbeginn 247,1 g (Minimum: 160 g, Maximum: 320 g), das der weiblichen (nicht schwangeren) Tiere 214,5 g (Minimum: 120 g, Maximum: 300 g).

Am Ende der Untersuchungen war dieses Durchschnittsgewicht dagegen leicht angestiegen, und zwar bei den Böcken auf 252,3 g, bei den weiblichen Tieren auf 220,7 g.

Diese unerhebliche Gewichtszunahme konnte bei behandelten und unbehandelten Tieren gleichermassen beobachtet werden und ist bei der geringen Tierzahl je Käfig wohl auf eine bessere Ernährung besonders der schwächeren Tiere zurückzuführen.

Was die Temperatur in den Stallungen anbetrifft, so wurde versucht, diese möglichst konstant zu halten; doch liessen sich Schwankungen zwischen $+14^{\circ}$ und $+25^{\circ}$ C nicht vermeiden.

Das Tierfutter blieb im Wesentlichen gleich:

Von Patienten übrig gelassene Speisereste, Trockenfutter (Hafer, Kalk etc.), altes Brot, Wasser ad libidum und rohe Karotten, letztere zu dem Zweck, einer Kolpokeratose durch Vitamin-A-Mangel (56, 57) vorzubeugen.

Jedes der behandelten Tiere bekam dazu täglich 0,5 ccm Venostasin intraperitoneal injiziert, also eine durchschnittliche Dosis von ungefähr 2,0 ccm pro Kilogramm Körpergewicht. Dies entsprach dem Zehnfachen der beim Menschen üblicherweise verwandten Menge. Um dabei eine

Verletzung eines der beiden Uterushörner zu vermeiden, wurde zwischen den beiden Mm. recti eingestochen.

Untersuchung der Fertilität normaler Ratten.

Das Ziel dieser Untersuchungsreihen war, einen Einblick in die natürliche Fertilität unserer Tiere zu bekommen und für die eigentlichen Untersuchungen solche Tiere bereit zu haben, die sich bereits als fertil erwiesen hatten, bei denen also mechanische Konzeptionshindernisse oder Oligospermie usw. mit grösster Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden konnten.

So erfolgte die Paarung in drei zeitlich verschiedenen Paarungsreihen (A1, A2, A3). Paarungsreihe A1 unterschied sich von den Paarungsreihen A2 und A3 interessehalber in der Methode.

Dabei wurden jedesmal diejenigen Böcke, deren Weibchen geworfen hatten, mit diesen aus den Käfigen herausgenommen und nach Geschlecht getrennt für die späteren Versuchsreihen (B1, B2, B3, B4) aufbewahrt.

Paarungsreihe A1.

34 männliche und 102 weibliche Ratten wurden 50 Tage lang in Käfige zusammengesetzt, und zwar je Käfig ein Bock und drei Weibchen. Über jedes Tier, den Geburtstermin, die Zahl der Jungen etc. wurde genau Protokoll geführt (s. S. 70).

Bei der Auslese der fertilen Böcke ergaben sich jedoch einige unvorhergesehene Schwierigkeiten:

Obwohl zu Beginn der Paarung alle Weibchen auf eine bestehende Schwangerschaft abgetastet wurden, kam es sechs Tage später trotzdem bereits zum ersten Wurf. Einige andere folgten. Da bei Ratten die durchschnittliche Tragzeit aber 21 Tage beträgt, mussten sich also in den Käfigen Weibchen befinden, die schon vorher von irgendwelchen Böcken befruchtet worden waren.

Um nun möglichen Irrtümern auszuweichen - Angaben anderer Autoren über die minimale bzw. maximale Tragzeit von Ratten standen uns nicht zur Verfügung - wurde in dieser Paarungsreihe ein Bock nur dann als fertil betrachtet, wenn wenigstens eines seiner Weibchen erst 26 Tage nach Paarungsbeginn geworfen hatte.

Die nun folgende Tabelle zeigt die bei A1 beobachteten Resultate:

34 Böcke wurden gepaart	100,0 %
26 davon erwiesen sich als fertil	76,5 %
8 davon waren möglicherweise steril	23,5 %
102 weibliche Ratten wurden gepaart	100,0 %
5 davon starben unter dem Versuch	4,9 %
97 weibliche Ratten verblieben als Rest.....	100,0 %
74 davon warfen	76,3 %
23 davon waren möglicherweise steril	23,7 %
Frühester Geburtstermin: ?	
Spätester Geburtstermin: 64 Tage nach Paarungsbeginn	
Durchschnittliche Anzahl der Jungen pro Wurf	6,6
(Minimum: 2, Maximum: 15)	
Gesundgeborene Junge	93,8 %
nach dem Wurf tot aufgefundene Junge.....	6,2 %

Beginn der Paarung: 16.7.1957

Ende der Paarung: 4.9.1957

Paarungsreihe A2.

26 männliche und 26 weibliche Ratten wurden drei Wochen lang nach ihrem Geschlecht getrennt gehalten und dann 10 Tage lang in Käfige zusammengesetzt, je Käfig ein Bock und ein Weibchen. Eine bereits bestehende Schwangerschaft war also diesmal ausgeschlossen.

Auch hier wurde genau Protokoll geführt (s. S. 75).

Beginn der Paarung: 24.7.1957

Ende der Paarung: 3.8.1957

Die folgende Tabelle zeigt die bei A2 beobachteten Resultate:

26 Böcke wurden gepaart	100,0 %
Bei 2 davon ist die Fertilität fraglich, da hier die Versuchswelbchen starben	
24 Böcke verbleiben als Rest	100,0 %
17 davon erwiesen sich als fertil	70,8 %
7 davon waren möglicherweise steril	29,2 %
26 weibliche Ratten wurden gepaart	100,0 %
2 davon starben unter dem Versuch	7,7 %
24 weibliche Ratten verblieben als Rest.....	100,0 %
17 davon warfen	70,8 %
7 davon waren möglicherweise steril	29,2 %
Anzahl der Tage vom Paarungsbeginn bis zum Wurf im Durchschnitt	23,9
(Minimum: 21 Tage, Maximum: 27 Tage)	
Durchschnittliche Anzahl der Jungen pro Wurf	8,9
(Minimum: 4, Maximum: 15)	
Gesundgeborene Junge	98,6 %
nach dem Wurf tot aufgefundene Junge	1,2 %

Paarungsreihe A3.

10 männliche und 10 weibliche Ratten wurden drei Wochen lang nach ihrem Geschlecht getrennt gehalten und dann 10 Tage lang in Käfige zusammengesetzt; je Käfig ein Bock und ein Weibchen. Eine bereits bestehende Schwangerschaft war also auch hier ausgeschlossen.

Über alle Tiere wurde genau Protokoll geführt (s. S.

Beginn der Paarung: 6.9.1957

Ende der Paarung: 16.9.1957

Die folgende Tabelle zeigt die bei A3 beobachteten Resultate:

10 Böcke wurden gepaart.....	100,0 %
5 davon erwiesen sich als fertil	50,0 %
5 davon waren möglicherweise steril	50,0 %
10 weibliche Ratten wurden verwendet	100,0 %
5 davon warfen	50,0 %
5 davon waren möglicherweise steril	50,0 %
Anzahl der Tage vom Paarungsbeginn bis zum Wurf im Durchschnitt	25,2
(Minimum: 24, Maximum: 28 Tage)	
Durchschnittliche Anzahl der Jungen pro Wurf	7,6
(Minimum: 4, Maximum: 12)	
Gesundgeborene Junge	97,4 %
Nach dem Wurf tot aufgefundene Junge	2,6 %

Untersuchung der Fertilität dieser Auslese-Tiere unter Verabreichung von Venostasin an einen Teil derselben.

Am 20.8.1957 standen uns aus den Paarungsreihen A1 und A2 108 fertile Ratten zur Verfügung, 36 Böcke und 72 Weibchen. Um bei den Weibchen jedoch einer möglichen Sterilität post partum auszuweichen, wurde mit der weiteren Paarung noch gewartet.

Am 28.8.1957 fingen wir dann bei denjenigen Tieren, die während der Paarung unter Venostasin-Behandlung stehen sollten, mit der Vorbehandlung, der oben erwähnten "Sättigungsperiode", an und am 6.9.1957, also 17 Tage nach dem letzten Wurf der Weibchen wurde schliesslich mit der eigentlichen Versuchspaarung begonnen.

Nach SIEVE (179) soll die Vorbehandlung eine Grundvoraussetzung dieser Art Schwangerschaftsverhütung sein, und da auch alle jene anderen Autoren diese Sättigungsperiode erwähnten, wurde sie von uns - wie auch von SIEVE beim Menschen angegeben - auf 10 Tage festgesetzt.

Die Paarungszeit dauerte bei unseren Ratten - der Arbeit von DÖRING und BIERWAG (19) entsprechend - ebenfalls 10 Tage, da die Ratte nach LONG und EVANS (115) durchschnittlich alle 4,5 Tage ihr rhythmisch wiederkehrendes Konzeptionsoptimum (= Oestrus) haben soll und uns folglich eine 10-tägige Paarungsdauer auszureichen schien, um bei jedem Weibchen wenigstens einen Oestrus sicher zu treffen.

Dementsprechend betrug also die gesamte Behandlungsdauer 20 Tage, wovon 10 Tage auf die Sättigungsperiode und 10 Tage auf die Paarungsdauer entfielen. In dieser Zeit bekam jedes behandelte Tier, wie schon erwähnt, 0,5 ccm Venostasin intraperitoneal injiziert.

Mit Beginn der Paarungszeit (= Ende der Sättigungsperiode) wurden nun vorbehandelte und unbehandelte, fertile Tiere, immer ein Bock und zwei Weibchen, zu folgenden Paarungsreihen zusammengesetzt:

B1:	24 unbehandelte Weibchen 12 behandelte Böcke
B2:	24 behandelte Weibchen 12 unbehandelte Böcke
B3:	24 behandelte Weibchen 12 behandelte Böcke

Auf eine Kontrollpaarung unbehandelter Tiere untereinander wurde zunächst verzichtet, da wir - wie auch DÖRING und BIERWAG (19) - annahmen, dass bei Paarung solcher Tiere, die sich bereits als fertil erwiesen hatten, die Geburtenrate grundsätzlich 100 % betrage. Doch die Resultate in B1, B2 und B3 veranlassten uns dann doch gut 5 Wochen später, am 14.10.1957 eine Paarungsreihe unbehandelter Kontrolltiere zu starten:

B4:	24 unbehandelte Weibchen 12 unbehandelte Böcke
-----	---

Auch diese Tiere hatten sich in den Paarungsreihen A1, A2 und A3 als sicher fertil erwiesen und auch hier waren zwischen dem letzten Wurf der Weibchen und dem neuerlichen Paarungsbeginn mindestens 10 Tage verstrichen.

Die bei diesen vier Paarungsreihen beobachteten Resultate finden sich in den Tabellen der folgen Seiten, die Versuchsprotokolle dagegen sind am Ende der Arbeit angeführt (für B1 s.S. 78, für B2 s.S. 80, für B3 s. S. 82, und für B4 s.S. 84).

Die Resultate der Versuchspaarung B1: unbehandelte Weibchen und behandelte Böcke.

12 Böcke wurden gepaart	100,0 %
Bei 9 Böcken warfen beide Weibchen	75,0 %
Bei 2 Böcken warf nur eines der beiden Weibchen..	16,7 %
Bei 1 Bock warf keines der beiden Weibchen	8,3 %
24 Weibchen wurden gepaart	100,0 %
20 Weibchen warfen	83,3 %
4 Weibchen warfen nicht	16,7 %
Anzahl der Tage vom Paarungsbeginn bis zum Wurf im Durchschnitt	25,5
(Minimum: 22 Tage, Maximum: 31 Tage)	
Durchschnittliche Anzahl der Jungen pro Wurf	8,9
(Minimum: 1, Maximum: 11)	
Gesundgeborene Junge	97,2 %
Nach dem Wurf tot aufgefundene Junge	2,8 %

Die Resultate der Versuchspaarung B2: behandelte Weibchen und unbehandelte Böcke.

12 Böcke wurden gepaart	100,0 %
Bei 2 Böcken warfen beide Weibchen	16,7 %
Bei 7 Böcken warf nur eines der beiden Weibchen .	58,3 %
Bei 3 Böcken warf keines der beiden Weibchen	25,0 %
24 Weibchen wurden gepaart	100,0 %
2 Weibchen starben unter dem Versuch	8,3 %
22 Weibchen verblieben als Rest	100,0 %
11 Weibchen warfen	50,0 %
11 Weibchen warfen nicht	50,0 %
Anzahl der Tage vom Paarungsbeginn bis zum Wurf im Durchschnitt	24,8
(Minimum: 22 Tage, Maximum: 30 Tage)	
Durchschnittliche Anzahl der Jungen pro Wurf	6,5
(Minimum: 4, Maximum: 8)	
Gesundgeborene Junge	100,0 %
Nach dem Wurf tot aufgefundene Junge	0,0 %

Die Resultate der Versuchspaarung B3: behandelte Weibchen und behandelte Böcke.

12 Böcke wurden gepaart	100,0 %
Bei 4 Böcken warfen beide Weibchen	33,3 %
Bei 7 Böcken warf nur eines der beiden Weibchen .	58,3 %
Bei 1 Bock warf keines der beiden Weibchen	8,3 %
24 Weibchen wurden gepaart	100,0 %
2 Weibchen starben unter dem Versuch	8,3 %
22 Weibchen verblieben als Rest	100,0 %
15 Weibchen warfen	68,2 %
7 Weibchen warfen nicht	31,8 %
Anzahl der Tage vom Paarungsbeginn bis zum Wurf im Durchschnitt	25,8
(Minimum: 23 Tage, Maximum: 33 Tage)	
Durchschnittliche Anzahl der Jungen pro Wurf	7,0
(Minimum: 1, Maximum: 13)	
Gesundgeborene Junge	93,3 %
Nach dem Wurf tot aufgefundene Junge	6,7 %

Die Resultate der Versuchspaarung B4: unbehandelte Weibchen und unbehandelte Böcke.

12 Böcke wurden gepaart	100,0 %
Bei 3 Böcken warfen beide Weibchen	25,0 %
Bei 7 Böcken warf nur eines der beiden Weibchen .	58,3 %
Bei 2 Böcken warf keines der beiden Weibchen	16,7 %
24 Weibchen wurden gepaart	100,0 %
1 Weibchen starb unter dem Versuch	4,2 %
23 Weibchen verblieben als Rest	100,0 %
13 Weibchen warfen	56,5 %
10 Weibchen warfen nicht	43,5 %
Anzahl der Tage vom Paarungsbeginn bis zum Wurf im Durchschnitt	26,2
(Minimum: 22 Tage, Maximum: 32 Tage)	
Durchschnittliche Anzahl der Jungen pro Wurf	7,9
(Minimum: 1, Maximum: 13)	
Gesundgeborene Junge	92,2 %
Nach dem Wurf tot aufgefundene Junge	7,8 %

Untersuchung der Ovarialfunktion normaler Ratten unter Verabreichung von Venostasin.

Bei 10 Ratten, die bereits in der klinikeigenen Tierzucht geworfen hatten, sich somit also fertil erwiesen hatten, wurden 40 Tage lang in der Zeit vom 26. Juli 1957 bis zum 3. September 1957 Vaginalabstriche gemacht.

Vom 12. Tag an bekamen diese Tiere ausserdem 20 Tage lang 0,5 ccm/Tier/Tag Venostasin intraperitoneal verabreicht.

Dies taten wir einmal, um zu untersuchen, ob Venostasin die Ovarialfunktion beeinflusst, zum anderen aber, um einen Einblick in die Fertilität unserer weiblichen Ratten zu gewinnen.

STOCKARD und PAPANICOLAU (181) hatten 1917 erstmals ihre Entdeckung veröffentlicht, dass sich Oestrus und Ovulation beim lebenden Tier leicht durch Untersuchung von Vaginalabstrichen feststellen lassen. Und seitdem ist die cytologische Untersuchung des rhythmisch wechselnden Zellgehaltes und der Viskosität des Scheidensekretes die bewährteste Methode, die Ovarialfunktion zu überprüfen.

Die auf der nächsten Seite folgende Tabelle zeigt dazu die hormonell aneinander gekoppelten Veränderungen in Ovar und Scheidensekret, wie sie von ZONDEK (208) angegeben wurden.

Das Scheidensekret wurde den Ratten mit einem ausgeglühten Platinspatel entnommen, der so gross war, dass er sich leicht in die Scheide einführen liess ohne Verletzungen zu setzen. Mit diesem Spatel wurde nun vorsichtig möglichst hoch in die Scheide eingegangen und durch eine zirkuläre Bewegung die gesamte Scheidenschleimhaut abgestrichen. Der Vestibular- teil der Scheide wurde dagegen gemieden, um nicht vom Zyklus unabhängig verhornte Epithelien auf das Abstrich-Präparat zu bekommen.

Die zyklischen Veränderungen in den Ovarien und im Scheidensekret der Ratte, nach Untersuchungen von ALLEN (1) und ZONDEK (208).

<u>Zyklusphase</u>	<u>Ovarium</u>	<u>Scheidensekret</u>
Dioestrus = Ruhephase	Corpora lutea früherer Zyklen, kleine bis mittelgroße Follikel.	Schleim, Leukocyten, kernhaltige Epithelien
Prooestrus = Proliferationsphase	Corpora lutea früherer Zyklen, größere Follikel mit einer Follikelhöhle.	kernhaltige Epithelien
Oestrus = Brunst	Große Follikel mit großer Follikelhöhle, kleine Granulosazellen von 2-3 Reihen Thecazellen umgeben. Follikelsprung! Beim Übergang zum Metoestrus Beginn der Corpus-luteum-Bildung.	kernlose Schollen
Metoestrus = Dequamationsphase	Junge Corpora lutea	Leukocyten, kernhaltige Epithelien, kernlose Schollen

Vergleichsabstriche mit der herkömmlichen Platin-Öse erwiesen sich als wesentlich langwieriger und ergaben besonders in den sekretarmen Zyklusphasen trotz Zusatz von Kochsalzlösung nur wenig Material.

Nach Anfertigung verschieden gefärbter Vergleichspräparate (Hämalaun-Eosinfärbung, sowie Shorr-, Pappenheim- und Methylenblaufärbung) entschieden wir uns für die einfache Anfärbung unserer Abstrichpräparate mit Methylenblau. Vor allem hatte sich diese Methode an unserer Klinik auch schon früher bewährt (94).

Die einzelnen Zyklusphasen wie Oestrus, Metoestrus, Dioestrus und Prooestrus - neuerdings unterscheiden manche Autoren auch noch weitere Stadien (4) - wurden von uns nur nach dem Vorkommen der einzelnen von ZONDEK angegebenen Zellarten und nach der Viskosität des Sekretes diagnostiziert.

Dabei hatten wir bei jedem Tier zunächst nur einen Abstrich täglich vorgesehen, doch zeigte sich, dass bei der unterschiedlichen Dauer der einzelnen Phasen grundsätzlich mehrere Abstriche an einem Tag notwendig gewesen wären, um einen klaren Einblick in den Zyklusablauf zu gewinnen.

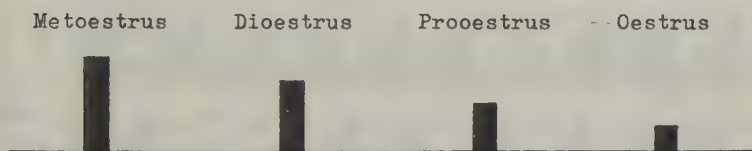
Da aber zu viele Abstriche wiederum zu einer zyklusunabhängigen Verhornung des Scheidenepithels und somit zu unmotivierten Schollenstadien führen sollen (52), beschränkten wir uns bewusst darauf, festzustellen, an welchen Tagen die einzelnen Stadien auftraten, und ob der Zyklus unter der Venostasin-Behandlung auch wirklich in der beschriebenen Weise abließ. Auf eine exakte Bestimmung des Eintritts und der genauen Dauer der jeweiligen Stadien mussten wir also verzichten.

Dementsprechend sind auch die Zyklus-Diagramme, die wir nun nach den Abstrich-Ergebnissen von jeder der 10 Ratten angefertigt haben (s. S.), nur sehr ungenau; denn aus Gründen der Übersicht trugen wir das bei ein oder zwei täglichen Abstrichen gefundene Stadium gleich für den ganzen Tag ein. Dadurch aber kann fälschlicherweise der Eindruck entstehen, als wären die Zyklusphasen alle von gleicher Dauer gewesen. Unseren Erfahrungen nach scheint sich jedoch beispielsweise der Metoestrus nur über ca. 8 Stunden zu erstrecken, während das reine Oestrussta-

dium stets mindestens einen vollen Tag lang beobachtet werden konnte. Doch wie schon gesagt, exakte Untersuchungen waren uns in diesem Punkt nicht möglich.

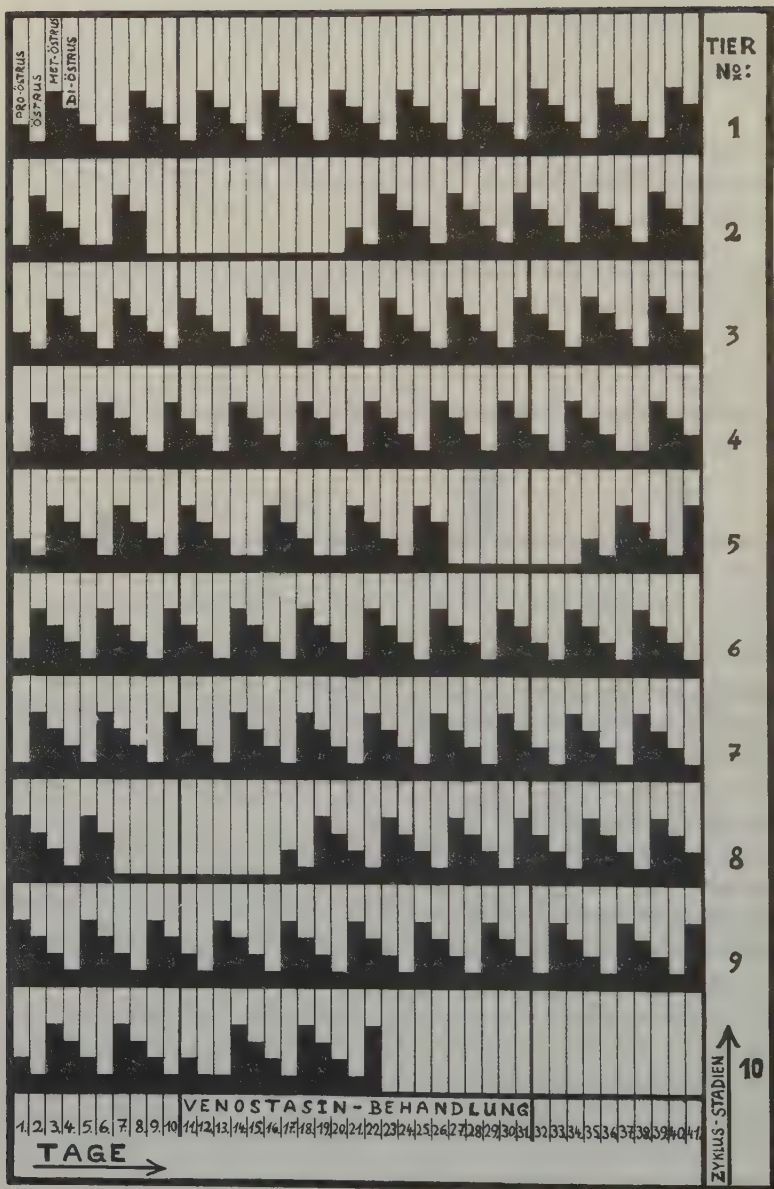
In all jenen Fällen, in denen wir also an ein und demselben Tag zwei verschiedene Zyklusphasen vorfanden, trugen wir in das Diagramm nur das im Zyklusablauf neu auftretende Stadium ein; denn nur so war es uns möglich, den Zyklusablauf tatsächlich zu überblicken.

Die einzelnen Phasen kennzeichneten wir dabei in den Diagrammen folgendermassen:



Betrachten wir nun den Zyklusablauf bei unseren 10 Tieren, (s. S. 58), so reiht sich fast immer Stadium an Stadium, dem Metoestrus folgt zunächst der Dioestrus, dann der Prooestrus und schliesslich der Oestrus. Das Intervall von Oestrusbeginn zu Oestrusbeginn scheint in der Regel 14 Tage zu betragen. Nur manchmal währte das Oestrusstadium 2 Tage und das Intervall damit 5 Tage.

Bei 3 Ratten (30 %), bei den Tieren Nr. 2, Nr. 5 und Nr. 8, war die konstante Zyklusfolge allerdings durch einen Abschnitt unterbrochen, der durch folgendes cytologisches Bild auffiel: stark violett angefärbte, massenhafte Schleimfäden sowie mazerierte Zellen und Zellkerne.



Diese Erscheinung wird auch von anderen Autoren erwähnt (s. u.) und ist wohl als eine natürliche, von Zeit zu Zeit wiederkehrende Pause im rhythmischen Zyklusablauf aufzufassen. Im angloamerikanischen Schrifttum wird sie sogar direkt dem Dioestrus zugerechnet - auch in unseren 3 Fällen erwies sie sich als ein verlängerter Dioestrus (siehe Diagramm) - doch unterscheidet sich hier das cytologische Bild, wie schon gesagt, klar von dem des normalen Dioestrus. (Weiteres siehe unten.)

Bei einer unserer Ratten, dem Tier Nr. 10, machten wir eine bemerkenswerte Beobachtung:

12 Tage nach Beginn der Venostasin-Behandlung begann diesem Weibchen wasserartiges, glasklares Sekret aus der Scheide zu tropfen. Ein Abklingen dieser Erscheinung konnten wir auch während der weiteren 8 Wochen, in denen das Tier noch beobachtet wurde, nicht feststellen.

Das cytologische Bild unterschied sich ebenfalls deutlich von dem anderer Stadien. In dem kaum lichtbrechenden Sekret fanden sich nur sehr wenig Schollen, überhaupt keine anderen Zellen, dafür aber massenhaft farblose, stärker lichtbrechende Gebilde von der Form eines Schwertkreuzes. Sie übertrafen die Schollen in der Grössenordnung etwa um das Dreifache und nur ihre deutlich unregelmässige Begrenzung hielt uns ab, von kristallähnlicher Form zu sprechen.

Natürlich stellten wir uns die Frage, ob diese Erscheinung nicht möglicherweise durch die Venostasin-Behandlung ausgelöst wurde. Doch scheint dies wenig wahrscheinlich, da bei den anderen neun Ratten im Zyklusbild keinerlei Unregelmässigkeiten festzustellen waren. So fanden wir auch trotz Venostasin-Behandlung bei allen 10 Ratten zusammen ein Intervall von Oestrusbeginn zu Oestrusbeginn von durchschnittlich 4,5 Tagen und dies muss als ein durchaus normales Mittel betrachtet werden.

Histologische Untersuchung von Organen auf spezifische morphologische Veränderungen.

In der Zeit vom 3. Aug. 1957 bis zum 10. Nov. 1957, also 100 Tage lang, bekamen vier weibliche und zwei männliche Ratten pro Tier und Tag 0,5 ccm Venostasin intraperitoneal injiziert.

Am Ende der Behandlung wurden diese Tiere sowie je zwei männliche und weibliche, unbehandelte Kontrolltiere durch Ätherinhalation getötet und seziiert. Testes bzw. Ovarien, sowie Leber, Milz, Nebennieren und Schilddrüsen wurden entfernt und histologisch untersucht.

Durch Vergleich der Organe von behandelten und unbehandelten Tieren wurde daraufhin versucht, folgende Fragen zu klären: Sind unter Venostasinverabreichung im Cumulus oophorus der Follikel oder im Keimepithel des Hodens morphologische Veränderungen festzustellen? Ja, lassen sich die Organe behandelter Tiere im histologischen Bild überhaupt von denen unbehandelter unterscheiden?

Immerhin liesse sich ja annehmen, dass eine Hemmung der körpereigenen Hyaluronidase an den einzelnen Organen nicht gänzlich spurlos vorübergeht. Natürlich vorausgesetzt, Venostasin bewirkt überhaupt eine solche Hemmung.

Praktisch waren aber nun keinerlei Veränderungen zu beobachten, die auf das Venostasin, bzw. eine Hyaluronidasehemmung hätten bezogen werden können. Weder bei den Testes oder Ovarien, noch bei den anderen Organen.

Doch sei hier klargestellt, dass sich diese Fragen überhaupt nur an Hand einer weitaus grösseren Anzahl Tiere exakt beantworten lassen (DONTENWILL: 47).

Besprechung der Ergebnisse.

Versuchen wir nun die Frage zu klären, ob Venostasin eine Hemmung der körpereigenen Hyaluronidase bewirkt und somit möglicherweise die Fertilität beeinflusst, so bieten sich uns zunächst ähnlich unklare Resultate, wie sie auch schon in den früheren Arbeiten jene oben zitierten Autoren mit anderen Substanzen erhalten haben.

Aus Gründen der Übersicht sind in dem folgenden Schema noch einmal die in unseren Versuchspaarungen (B1, B2, B3, B4) erzielten Schwangerschaften aufgeführt, wobei sich die Prozentwerte jeweils auf die theoretisch möglichen Schwangerschaften beziehen:

	unbehandelte ♂ Kontrolltiere	behandelte ♂ Versuchstiere
unbehandelte ♀ Kontrolltiere	(56,5 %)	83,3 %
behandelte ♀ Versuchstiere	50,0 %	68,2 %

Wie schon erwähnt waren wir bei unseren Paarungsreihen davon ausgegangen, dass bei Ratten, die sich einmal als fertil erwiesen haben, die Schwangerschaftsrate bei einer weiteren 10-tägigen Paarung grundsätzlich 100 % betrage.

Als wir daher nach der Venostasin-Behandlung eine Schwangerschaftsrate von 83,3 % bzw. 68,2 % erhielten, ja, sogar eine solche von 50,0 %, vermuteten wir zunächst, dass es sich hier um einen Venostasin bedingten Fertilitätsrückgang handle. Selbst als wir 5 Wochen später bei der Kontrollpaarung der unbehandelten Ratten eine Schwangerschaftsrate von

nur 56,5 % beobachteten. obwohl sich ja auch diese Tiere zuvor als fertil erwiesen hatten, hielten wir noch an dieser unserer Auffassung fest; denn diese Kontrollpaarung war ja jahreszeitlich später durchgeführt worden (Oktober!) und aus unserer klinikeigenen Tierzucht war uns bekannt, dass die Fertilität der Rattenweibchen im Winter zurückgeht (DÖRING).

Doch als wir dann unsere Versuchsprotokolle einer genauen Prüfung unterzogen und uns vor allem in der einschlägigen zoologischen Literatur umsahen, kamen uns starke Zweifel, ob hier tatsächlich ein Einfluss von Venostaslin vorlag:

1. Bei allen Paarungsreihen mit 10-tägiger Paarungsdauer erfolgten die Würfe frühestens 21 Tage, spätestens 33 Tage nach Paarungsbeginn.

Bei A1, aber, der Paarungsreihe mit 50-tägiger Paarungsdauer, warfen 13 Weibchen erst 35 bis 64 Tage nach Paarungsbeginn. Da nach LONG^{*} und EVANS bei Ratten die Schwangerschaft 21,5 bis 22 Tage dauert (115) - bei unseren Tieren 21 bis 23 Tage - sind hier also rund 18 % aller schwangeren Weibchen erst 12 bis 43 Tage nach Beginn der Paarung befruchtet worden! Folglich wären diese Tiere bei einer nur 10-tägigen Paarungsdauer keinesfalls schwanger geworden.

Daraus erklären sich nun auch die sehr unterschiedlichen Durchschnittszeiten zwischen Paarungsbeginn und Geburtstermin:

bei allen unbehandelten Ratten mit 50-tägiger
 Paarungsdauer 29,1 Tg.
 (Da nur hier bei A1 Würfe früher als 21 Tage
 beobachtet wurden und einzelne Tiere also be-
 reits befruchtet waren, sind hier nur die Fälle
 gezählt, wo die Würfe mindestens 21 Tage nach
 Paarungsbeginn erfolgten).

bei allen unbehandelten Ratten mit 10-tägiger
 Paarungsdauer 24,9 Tg.

bei allen behandelten Ratten mit 10-tägiger
 Paarungsdauer 25,4 Tg.

2. Unsere Zyklusuntersuchungen (s. S. 58) ergaben, dass im Monat August (also noch im Sommer) bereits bei 30 % jener 10 Ratten das Intervall von Oestrusbeginn zu Oestrusbeginn durch Zykluspausen stark verlängert war.

Da aber die Ratte nur während des Oestrus konzipieren kann und auch nur hier vom Bock gejagt wird (ZONDEK: 208), sind diese Tiere also einmal 11 Tage, einmal 13 Tage und einmal 15 Tage lang steril gewesen und wären folglich bei 10-tägiger Paarungsdauer ebenfalls nicht schwanger geworden.

3. Diese eigenen Beobachtungen werden ausserdem noch durch die Angaben anderer Autoren über die Fertilität der weissen Laboratoriumsratte unterstützt:
- a) Nach BLANDAU und MONEY (22) soll die Albino-Ratte erst 34 bis 67 Tage nach ihrer Geburt geschlechtsreif werden, nach LONG und EVANS (115) sogar erst 92, 7 Tage.

FARRIS (58) berichtet jedoch, dass die Fortpflanzungsfunktion allmählich schon wieder aufhöre, wenn die Ratten ein Alter von 15 - 18 Monaten erreicht haben.

Daraus folgt, dass die weisse Laboratoriumsratte überhaupt nur während einer sehr kurzen Zeitspanne fortpflanzungsfähig ist.

- b) Aber auch in dieser Zeitspanne sind die Weibchen im Gegensatz zu den Männchen wiederum nur an wenigen Tagen fertil. So konnten LONG und EVANS (115) bei ihren Ratten nur alle 3 bis 38 Tage einen Oestrus beobachten (Durchschnitt: alle 5,4 Tage), BLANDAU, BOLING und YOUNG (21) dagegen alle 2 bis 19 Tage (Durchschnitt: alle 4,4 Tage) und MANDL (119) alle 4 bis 60 Tage (Durchschnitt: alle 4,4 Tage). ASDELL (3) berichtet über einen solchen Durchschnitt von 4,8 Tagen und ZONDEK (208) von 6 - 8 Tagen.

Diese Zykluspausen scheinen dabei aber keinesfalls auf die Ratte beschränkt zu sein. So schreibt ZONDEK (208), dass es auch bei der weissen Laboratoriumsmaus Tiere gebe, die wochenlang überhaupt nicht und dann plötzlich rhythmisch östrisch würden. Andere seien wieder einigemale rhythmisch östrisch, um dann in unregelmässige Brunstfolge zu kommen. Sicher spiele aber hier die Jahreszeit eine Rolle.

Ja, ZONDEK zufolge hat die Albino-Maus im Jahr überhaupt nur 30 - 36 mal einen Oestrus. Und wenn uns von der Ratte entsprechende Angaben auch fehlen, so ist hier doch sicher ähnliches zu vermuten.

Man wird also von Ratten oder Mäusen bei 10-tägiger Paarung niemals eine 100 %ige Schwangerschaftsrate erwarten dürfen, selbst auch dann nicht, wenn sich alle gepaarten Tiere zuvor schon als fertil erwiesen haben. Tritt sie aber trotzdem ein, so muss sie rein als Zufall betrachtet werden.

4. Doch ergaben sich auch noch weitere Indizien, die eine fertilitätsbeeinflussende Wirkung des Venostasin höchst unwahrscheinlich erscheinen lassen:

Von insgesamt 24 behandelten Böcken (B1 + B3) warf nur bei 2 (8,3 %) keines der beiden Weibchen.

Bei den 24 anderen, unbehandelten Böcken (B2 + B4) warf dagegen in 5 Fällen (20,8 %) keines der beiden Weibchen.

Also ergaben sich überhaupt nur bei 8,3 % der Böcke Anhaltspunkte für eine mögliche, Venostasin bedingte Sterilität. Und auch dies ist unwahrscheinlich.

5. Nach EICHENBERGER, NIENDORF und KURZROK soll die Hyaluronidase bei der Frühernährung und Nidation des Eies eine Rolle spielen. NIENDORF vermutet dabei, dass das Ei bei einer mangelnden Hyaluronidase-Aktivität des Spermas entweder gleich zugrunde gehe, oder dass es zu Entwicklungsstörungen und späteren Aborten käme.

Trotz Venostasinbehandlung blieb bei unseren Ratten aber die durchschnittliche Anzahl der Jungen pro Wurf unverändert, ebenso der Prozentsatz der unmittelbar nach der Geburt tot aufgefundenen Jungen:

Durchschnittliche Anzahl der Jungen pro Wurf.

bei allen unbehandelten Tieren (A1+A2+A3+B4)	7,3
bei allen behandelten Tieren (B1+B2+B3)	7,1
bei B1 (unbehandelte Weibchen und behandelte Böcke) ...	7,5
Bei B2 (behandelte Weibchen und unbehandelte Böcke) ...	6,5
bei B3 (behandelte Weibchen und behandelte Böcke)	7,0

Prozentsatz der unmittelbar nach der Geburt tot aufgefundenen Jungen.

bei allen unbehandelten Tieren ($A_1+A_2+A_3+B_4$)	5,0 %
bei allen behandelten Tieren ($B_1+B_2+B_3$)	3,6 %
bei B1	2,8 %
bei B2	0,0 %
bei B3	6,7 %

6. Weiterhin dürfte auch noch der Einfluss der Temperaturschwankungen in unseren Tierstallungen (s. S. 43) auf den Zyklus und die Schwangerschaftsrate unserer Tiere zu erörtern sein, da es sich ja bei der weissen Laboratoriumsratte im wesentlichen um ein domestiziertes Tier handelt.

Leider fehlen uns hier nun exakte Untersuchungen, wie auch fast alle oben zitierten Autoren bei ihren Tierversuchen genaue Angaben über die jeweiligen Temperaturverhältnisse vermissen lassen. Nur DÖRING und BIERWAG (19) sprechen davon, dass während ihrer Versuche die Temperatur konstant gehalten wurde. So wird sich also der Einfluss unserer Temperaturschwankungen nur sehr schwer beurteilen lassen.

Jedenfalls muss man damit rechnen, dass hierdurch die Fertilität unserer Ratten negativ beeinflusst worden ist, etwa im Sinne einer Verlängerung des Oestrusintervalls oder einer verstärkten Paarungsmüdigkeit der Tiere (DÖRING). Dies aber wäre eine weitere, und zwar wesentliche Erklärung für unsere niedrigen Schwangerschaftsraten, besonders in den Monaten September und Oktober, wogegen sich die Resultate unserer Zyklusuntersuchungen im August ja mit den Angaben von LONG und EVANS, ZONDEK, MANDL, ASDELL sowie BLANDAU, BOLING und YOUNG (s. S. 64) im grossen und ganzen decken.

So ist es denn höchst unwahrscheinlich, dass der Rosskastanienextrakt Venostasin in unserem Fall die Fertilität beeinflusst hat. Allerdings ist es uns nicht gelungen, dies klar und exakt zu objektivieren.

Gerade diese Tatsache lässt aber die von uns und all den anderen Autoren angewandte Methode sehr zweifelhaft erscheinen; denn weder eine vorangehende Auslese der fertilen Tiere noch eine vergleichsweise Kontrollpaarung unbehandelter Tiere geben einen sicheren Anhalt über die Fertilität oder den Fertilitätsrückgang von Ratten oder Mäusen unter Verabreichung eines Medikamentes.

Somit ist es aber auch noch nicht sicher bewiesen, dass von MARTIN und BEILER sowie von DÖRING und BIERWAG (s.o.) seinerzeit tatsächlich ein spezifischer, durch das Hesperidin-Phosphat bewirkter Fertilitätsrückgang beobachtet worden ist. Womit aber auch jene Widersprüche geklärt wären, dass von der Mehrzahl der Autoren ein Fertilitätsrückgang nicht beobachtet werden konnte und dass das Hesperidin-Phosphat im Gegensatz zu allen theoretischen Grundlagen durch Hemmung der körpereigenen Hyaluronidase ausgerechnet die Fertilität der Weibchen beeinflusst haben soll.

Aus diesem Grunde schlagen wir einen anderen Weg für die Beurteilung der antikonzeptionellen, bzw. fertilitätsbeeinflussenden Wirkung derjenigen Medikamente vor, die eine Hemmung der körpereigenen Hyaluronidase vermuten lassen.

1. Überprüfung der Hyaluronidase-Aktivität des Spermas:

Vor, während und nach Behandlung mit dem mutmasslichen Inhibitor müsste von männlichen Ratten oder Mäusen mittels einer künstlichen Vagina, wie sie in der Literatur des öfteren erwähnt wird, das Sperma gewonnen werden. Anschliessend liesse sich die Anwesenheit oder die Aktivität der Hyaluronidase exakt nachweisen, indem man - wie schon YAMANE (204, 205, 206) - durch vorsichtiges Erhitzen auf $40 - 45^{\circ}\text{C}$ die Spermien abtötet, Filtrate herstellt, und dann diese Filtrate im Viscositätsminderungstest (siehe GIBIAN: 68, 69) einer Überprüfung unterzieht.

2. Paarung unter cytologischer Zyklusüberwachung:

Diese Paarungen haben eigentlich erst dann einen Nutzen, wenn durch den oben vorgeschlagenen Untersuchungsweg eine Hemmung

der Spermahyaluronidase objektiviert werden konnte. Trotzdem muss aber unbedingt eine parallel laufende Zyklusüberwachung gefordert werden, denn erst dann, wenn ein Rattenweibchen trotz mehrerer, exakt nachgewiesener Oestrusstadien nicht schwanger geworden ist, kann man wohl mit Sicherheit von einer Beeinflussung der Fertilität sprechen.

Ausserdem muss aber bei allen diesen Untersuchungen ausschliesslich die Verwendung eines homogenen Inzuchtstammes unter wenigstens annähernd konstanten Versuchsbedingungen gefordert werden; denn man hat bis jetzt auf der Erde bereits die verschiedensten braunen und grauen Ratten-Rassen gefunden, die sich nun je nach Gegend in den charakteristischen Eigenschaften und Merkmalen unterscheiden, darunter auch in der Fertilität und der Zykluslänge (52, 90). Die in den Laboratorien verwendeten weissen Ratten (oder Mäuse) sind jedoch nur eine Albino-Abart dieser oder jener Rasse mit all deren charakteristischen Merkmalen (90).

So soll nach KAHMANN (90) in den USA bereits jede Klinik zur Aufzucht haben, einen eigenen reinen und homogenen Inzuchtstamm von Versuchsratten heranzuzüchten.

Zusammenfassung.

Durch ein umfassendes Studium der Fachliteratur wurde versucht, die Funktion der Hyaluronidase und ihrer Inhibitoren bei den Befruchtungsvorgängen zu klären.

Danach kommen wir zu dem Schluss, dass die Hyaluronidase bei der Imprägnation des Spermiums und bei der Denudation der Eizelle sowie bei der Frühernährung und der Nidation der jungen Frucht möglicherweise eine entscheidende Rolle spielt, und dass eine medikamentöse Hemmung der Spermahyaluronidase eventuell antikonzeptionelle oder abortive Auswirkung haben kann. Exakte Beweise für diese Hypothesen liegen jedoch auch heute noch kaum vor.

Sehr zweifelhaft erscheint uns dabei, dass bisher schon tatsächlich auf dem Wege der spezifischen Hyaluronidase-Hemmung eine echte Beeinflussung der Fertilität erzielt worden sein soll.

Weiterhin wurde an insgesamt 224 weissen Ratten der Rosskastanienextrakt Venostasin auf eine fertilitätsbeeinflussende Wirkung überprüft.

An Hand der erzielten Resultate erscheint uns eine solche Wirkung unwahrscheinlich.

Leider gelang es uns trotz Anwendung der bisher üblichen Methode nicht, diese Frage klar zu entscheiden. So schlagen wir einen anderen Weg vor, diese Fragen exakt zu klären.

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe A1.

Beginn der Paarung: 16.7.1957

Ende der Paarung: 4.9.1957

letzter Beobachtungstag: 18.9.1957

(In einigen Fällen konnten die Jungen nicht gezählt werden, da sie teilweise schon unter der Geburt vom Muttertier aufgefressen wurden.)

Käfig Nr.	Ratte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburts-termin	Anzahl der Tage vom Paarungsbe- ginn bis zum Wurf	keine Schwangerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefressene Jg.
1	1	M	-	-----	-----	-	+	-----	-----	-----
	2	w	-	13. 8.	28	-	+	12	12	o
	3	w	-	6. 8.	21	-	+	8	8	o
	4	w	-	10. 8.	25	-	+	11	11	o
2	5	M	-	-----	-----	-	+	-----	-----	-----
	6	w	-	5. 8.	20	-	+	?	?	?
	7	w	-	10. 8.	25	-	+	?	?	?
	8	w	-	17. 8.	32	-	+	2	2	o
3	9	M	-	-----	-----	-	+	-----	-----	-----
	10	w	-	28. 7.	12	-	+	15	10	5
	11	w	-	7. 8.	22	-	+	11	11	o
	12	w	-	20. 8.	35	-	+	11	9	2
4	13	M	-	-----	-----	-	-	-----	-----	-----
	14	w	+	--	--	-	-	--	--	-
	15	w	-	2. 8.	17	-	+	4	4	o
	16	w	-	--	--	+	-	--	--	-
5	17	M	-	-----	-----	-	?	-----	-----	-----
	18	w	-	8. 8.	23	-	+	8	8	o
	19	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	20	w	-	--	--	+	-	--	--	-
6	21	M	-	-----	-----	-	-	-----	-----	-----
	22	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	23	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	24	w	-	--	--	+	-	--	--	-

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe A1.

Käfig Nr.	Ratte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburtsstermin	Anzahl der Tage vom Paarungsbe- ginn bis zum Wurf	keine Schwangerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	Gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefundene Jg.
7	25	M	-	-----			+	-----		
	26	w	-	6. 8.	21	-	+	7	7	0
	27	w	-	9. 8.	24	-	+	?	?	?
	28	w	-	13. 8.	28	-	+	?	?	?
8	29	M	-	-----			+	-----		
	30	w	-	7. 8.	22	-	+	?	?	?
	31	w	-	10. 8.	25	-	+	10	10	0
	32	w	-	17. 8.	32	-	+	8	8	0
9	33	M	-	-----			+	-----		
	34	w	+	--	--	-	-	--	--	-
	35	w	-	13. 8.	28	-	+	?	?	?
	36	w	-	10. 8.	25	-	+	?	?	?
10	37	M	-	-----			+	-----		
	38	w	-	7. 8.	22	-	+	8	8	0
	39	w	-	15. 8.	30	-	+	?	?	?
	40	w	-	--	--	+	-	--	--	-
11	41	M	-	-----			+	-----		
	42	w	-	5. 8.	20	-	+	5	5	0
	43	w	-	9. 8.	24	-	+	?	?	?
	44	w	-	14. 8.	29	-	+	2	2	0
12	45	M	-	-----			+	-----		
	46	w	-	9. 8.	24	-	+	5	5	0
	47	w	-	21. 8.	36	-	+	5	3	2
	48	w	-	--	--	+	-	--	--	-
13	49	M	-	-----			-	-----		
	50	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	51	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	52	w	-	--	--	+	-	--	--	-

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe A1.

Käfig Nr.	Ratte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburts-termin	Anzahl der Tage vom Paarungsbe- ginn bis zum Wurf	keine Schwan- gerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefundene Jg.
14	53	M	-	-----			+	-----		
	54	w	-	3. 8.	18	-	+	4	4	o
	55	w	-	14. 8.	29	-	+	8	8	o
	56	w	-	7. 8.	22	-	+	7	7	o
15	57	M	-	-----			-	-----		
	58	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	59	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	60	w	-	--	--	+	-	--	--	-
16	61	M	-	-----			+	-----		
	62	w	-	27. 8.	42	-	+	5	3	2
	63	w	+	--	--	-	-	--	--	-
	64	w	-	--	--	+	-	--	--	-
17	65	M	-	-----			+	-----		
	66	w	-	28. 7.	12	-	+	?	?	?
	67	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	68	w	-	17. 8.	32	-	+	10	10	o
18	69	M	-	-----			+	-----		
	70	w	-	22. 7.	6	-	+	2	2	o
	71	w	-	10. 8.	25	-	+	?	?	?
	72	w	-	22. 8.	37	-	+	5	4	1
19	73	M	-	-----			+	-----		
	74	w	-	7. 8.	22	-	+	9	9	o
	75	w	-	10. 8.	25	-	+	8	8	o
	76	w	-	18. 9.	64	-	+	2	2	o
20	77	M	-	-----			+	-----		
	78	w	-	26. 7.	10	-	+	3	1	2
	79	w	-	11. 8.	26	-	+	8	8	o
	80	w	-	24. 8.	39	-	+	9	7	2

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe A1.

Käfig Nr.	Ratte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburtsstermin	Anzahl der Tage vom Paarungsbe- ginn bis zum Wurf	keine Schwangerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefundene Jg.
21	81	M	-	-----		+	-----			
	82	w	-	7. 8.	22	-	+	?	?	?
	83	w	-	9. 8.	24	-	+	10	10	0
	84	w	-	22. 8.	37	-	+	4	3	1
22	85	M	-	-----		+	-----			
	86	w	-	7. 8.	22	-	+	6	6	0
	87	w	-	18. 8.	33	-	+	6	5	1
	88	w	-	24. 8.	39	-	+	10	10	0
23	89	M	-	-----		+	-----			
	90	w	-	2. 8.	17	-	+	5	5	0
	91	w	-	3. 8.	18	-	+	7	4	3
	92	w	-	17. 8.	32	-	+	11	11	0
24	93	M	-	-----		+	-----			
	94	w	-	22. 7.	6	-	+	5	4	1
	95	w	-	10. 8.	25	-	+	?	?	?
	96	w	-	20. 8.	35	-	+	9	9	0
25	97	M	-	-----		+	-----			
	98	w	-	28. 7.	12	-	+	2	2	0
	99	w	-	8. 8.	23	-	+	8	8	0
	100	w	-	16. 8.	31	-	+	?	?	?
26	101	M	-	-----		?	-----			
	102	w	-	6. 8.	21	-	+	5	5	0
	103	w	-	7. 8.	22	-	+	3	1	2
	104	w	-	--	--	+	-	--	--	-
27	105	M	-	-----		+	-----			
	106	w	-	1. 9.	47	-	+	3	3	0
	107	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	108	w	+	--	--	-	-	--	--	-

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe A1.

Käfig Nr.	Hatte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburtsstermin	Anzahl der Tage vom Paarungsbe- ginn bis zum Wurf	keine Schwangerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefundene Jg.
28	109	M	-	-----			+	-----		
	110	w	-	3. 8.	18	-	+	3	3	0
	111	w	-	14. 8.	29	-	+	3	3	3
	112	w	-	--	--	+	-	--	--	-
29	113	M	-	-----			+	-----		
	114	w	-	7. 6.	22	-	+	9	9	0
	115	w	-	7. 6.	22	-	+	9	9	0
	116	w	-	13. 6.	28	-	+	4	4	0
30	117	M	-	-----			-	-----		
	118	w	+	--	--	-	-	--	--	-
	119	w	-	--	--	+	-	---	--	-
	120	w	-	--	--	+	-	--	--	-
31	121	M	-	-----			?	-----		
	122	w	-	25. 7.	9	-	+	6	6	0
	123	w	-	7. 6.	22	-	+	2	2	0
	124	w	-	--	--	+	-	--	--	-
32	125	M	-	-----			+	-----		
	126	w	-	25. 7.	19	-	+	?	?	?
	127	w	-	11. 8.	26	-	+	9	9	0
	128	w	-	17. 8.	32	-	+	6	6	0
33	129	M	-	-----			+	-----		
	130	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	131	w	-	24. 8.	39	-	+	4	4	0
	132	w	-	1. 9.	47	-	+	12	12	0
34	133	M	-	-----			+	-----		
	134	w	-	9. 8.	24	-	+	10	10	0
	135	w	-	6. 8.	21	-	+	1	1	0
	136	w	-	4. 9.	50	-	+	4	4	0

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe A2.

Reginn der Paarung: 24.7.1957

Ende der Paarung: 3.8.1957

letzter Beobachtungstag: 30.9.1957

Käfig Nr.	Ratte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburtsstermin	Anzahl der Tage vom Paarungsbe- ginn bis zum Wurf	keine Schwangerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefundene Jg.
35	137	M	-	-----	-----	-	+	-----	-----	-----
	138	w	-	18. 8.	25	-	+	8	8	o
36	139	M	-	-----	-----	-	?	-----	-----	-----
	140	w	+	--	--	-	-	--	--	-
37	141	M	-	-----	-----	-	+	-----	-----	-----
	142	w	-	14. 8.	21	-	+	?	?	?
38	143	M	-	-----	-----	-	+	-----	-----	-----
	144	w	-	16. 8.	23	-	+	4	4	o
39	145	M	-	-----	-----	-	-	-----	-----	-----
	146	w	-	--	--	+	-	--	--	-
40	147	M	-	-----	-----	-	+	-----	-----	-----
	148	w	-	20. 8.	27	-	+	12	12	o
41	149	M	-	-----	-----	-	+	-----	-----	-----
	150	w	-	17. 8.	24	-	+	8	8	o
42	151	M	-	-----	-----	-	+	-----	-----	-----
	152	w	-	17. 8.	24	-	+	12	12	o
43	153	M	-	-----	-----	-	-	-----	-----	-----
	154	w	-	--	--	+	-	--	--	-
44	155	M	-	-----	-----	-	+	-----	-----	-----
	156	w	-	16. 8.	23	-	+	12	12	o
45	157	M	-	-----	-----	-	+	-----	-----	-----
	158	w	-	15. 8.	22	-	+	15	15	o
46	159	M	-	-----	-----	-	-	-----	-----	-----
	160	w	-	--	--	+	-	--	--	-

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe A2.

Käfig Nr.	Ratte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburtstermin	Anzahl der Tage vom Paarungsbe- ginn bis zum Wurf	keine Schwangerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefundene Jg.
47	161	M	-	-----			+	-----		
	162	w	-	18. 8.	25	-	+	8	8	o
48	163	M	-	-----			+	-----		
	164	w	-	18. 8.	25	-	+	14	14	o
49	165	M	-	-----			?	-----		
	166	w	+	--	--	-	-	--	--	-
50	167	M	-	-----			-	-----		
	168	w	-	--	--	+	-	--	--	-
51	169	M	-	-----			+	-----		
	170	w	-	18. 8.	25	-	+	8	7	1
52	171	M	-	-----			+	-----		
	172	w	-	20. 8.	27	-	+	6	6	o
53	173	M	-	-----			+	-----		
	174	w	-	19. 8.	26	-	+	10	10	o
54	175	M	-	-----			-	-----		
	176	w	-	--	--	+	-	--	--	-
55	177	M	-	-----			+	-----		
	178	w	-	15. 8.	22	-	+	8	7	i
56	179	M	-	-----			+	-----		
	180	w	-	16. 8.	23	-	+	5	5	o
57	181	M	-	-----			-	-----		
	182	w	-	--	--	+	-	--	--	-
58	183	M	-	-----			+	-----		
	184	w	-	17. 8.	24	-	+	13	13	o
59	185	M	-	-----			-	-----		
	186	w	-	--	--	+	-	--	--	-
60	187	M	-	-----			+	-----		
	188	w	-	14. 8.	21	-	+	6	6	o

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe A3.

Beginn der Paarung: 6.9.1957

Ende der Paarung: 16.9.1957

letzter Beobachtungstag: 14.10.1957

Käfig Nr.	Ratte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburtsstermin	Anzahl der Tage vom Paarungsbe- ginn bis zum Wurf	keine Schwangerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefundene Jg.
61	189	M	-	-----			-	-----		
	190	w	-	--	--	+	-	--	--	-
62	191	M	-	-----			+	-----		
	192	w	-	30. 9.	24	-	+	7	6	1
63	193	M	-	-----			+	-----		
	194	w	-	29. 9.	23	-	+	4	4	0
64	195	M	-	-----			-	-----		
	196	w	-	--	--	+	-	--	--	-
65	197	M	-	-----			-	-----		
	198	w	-	--	--	+	-	--	--	-
66	199	M	-	-----			-	-----		
	200	w	-	--	--	+	-	--	--	-
67	201	M	-	-----			+	-----		
	202	w	-	1.10.	25	-	+	8	8	0
68	203	M	-	-----			-	-----		
	204	w	-	--	--	+	-	--	--	-
69	205	M	-	-----			+	-----		
	206	w	-	4.10.	28	-	+	12	12	0
70	207	M	-	-----			+	-----		
	208	w	-	2.10.	26	-	+	7	7	0

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe B1.

Paarung von unbehandelten Weibchen und behandelten Böcken.

Beginn der Vorbereitungszeit: 27.8.1957

Beginn der Paarung: 6.9.1957

Ende der Paarung: 16.9.1957

letzter Beobachtungstag: 16.10.1957

Während der Vorbereitungszeit und der Paarungszeit, also vom 27.8.1957-16.9.1957 Behandlung der Böcke mit 0,5 ccm Venostasin pro Tier und Tag, intraperitoneal verabreicht.

Käfig Nr.	Ratte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburts-termin	Anzahl der Tage vom Paarungsbeginn bis zum Wurf	keine Schwangerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefundene Jg.
71	209	M	-	-----			+	-----		
	210	w	-	29. 9.	23	-	+	8	7	1
	211	w	-	2.10.	26	-	+	3	2	1
72	212	M	-	-----			+	-----		
	213	w	-	30. 9.	24	-	+	6	6	0
	214	w	-	2.10.	26	-	+	1	1	0
73	215	M	-	-----			+	-----		
	216	w	-	2.10.	26	-	+	8	8	0
	217	w	-	2.10.	26	-	+	6	6	0
74	218	M	-	-----			+	-----		
	219	w	-	30. 9.	24	-	+	10	9	1
	220	w	-	--	--	+	-	--	--	-
75	221	M	-	-----			+	-----		
	222	w	-	30. 9.	24	-	+	9	9	0
	223	w	-	5.10.	29	-	+	8	8	0
76	224	M	-	-----			+	-----		
	225	w	-	29. 9.	23	-	+	6	6	0
	226	w	-	30. 9.	24	-	+	9	9	0

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe B1.

Käfig Nr.	Ratte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburts- termin	Anzahl der Tage vom Paarungsbe- ginn bis zum Wurf	keine Schwangerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefundene Jg.
77	227	M	-	-----			-	-----		
	228	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	229	w	-	--	--	+	-	--	--	-
78	230	M	-	-----			+	-----		
	231	w	-	28. 9.	22	-	+	9	9	o
	232	w	-	4.10.	28	-	+	10	10	o
79	233	M	-	-----			+	-----		
	234	w	-	3.10.	27	-	+	11	11	o
	235	w	-	--	--	+	-	--	--	-
80	236	M	-	-----			+	-----		
	237	w	-	30. 9.	24	-	+	8	7	1
	238	w	-	3.10.	27	-	+	10	10	o
81	239	M	-	-----			+	-----		
	240	w	-	29. 9.	23	-	+	4	4	o
	241	w	-	7.10.	31	-	+	?	?	?
82	242	M	-	-----			+	-----		
	243	w	-	2.10.	26	-	+	10	10	o
	244	w	-	2.10.	26	-	+	6	6	o

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe B2.

Paarung behandelter Weibchen und unbehandelter Böcke.

Beginn der Vorbereitungszeit: 27.8.1957

Beginn der Paarung: 6.9.1957

Ende der Paarung: 16.9.1957

letzter Beobachtungstag: 16.10.1957

Während der Vorbereitungszeit und der Paarungszeit, also vom 27.8.1957-

16.9.1957 Behandlung der Weibchen mit 0,5 ccm Venostasin pro Tier und Tag, intraperitoneal verabreicht.

Käfig Nr.	Ratte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburtstermin	Anzahl der Tage vom Paarungsbe- ginn bis zum Wurf	keine Schwangerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefundene Jg.
83	245	M	-	-----			+	-----		
	246	w	-	1.10.	25	-	+	4	4	o
	247	w	-	--	--	+	-	--	--	-
84	248	M	-	-----			+	-----		
	249	w	-	1.10.	25	-	+	7	7	o
	250	w	-	1.10.	25	-	+	4	4	o
85	251	M	-	-----			-	-----		
	252	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	253	w	-	--	--	+	-	--	--	-
86	254	M	-	-----			-	-----		
	255	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	256	w	-	--	--	+	-	--	--	-
87	257	M	-	-----			+	-----		
	258	w	-	2.10.	26	-	+	8	8	o
	259	w	-	--	--	+	-	--	--	-
88	260	M	-	-----			+	-----		
	261	w	+	--	--	-	-	--	--	-
	262	w	-	28. 9.	22	-	+	6	6	o

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe B2.

Käfig Nr.	Ratte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburtstermin	Anzahl der Tage vom Paarungsbe- ginn bis zum Wurf	keine Schwangerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefundene Jg.
89	263	M	-	-----			+	-----		
	264	w	-	1.10.	25	-	+	4	4	0
	265	w	-	6.10.	30	-	+	5	5	0
90	266	M	-	-----			+	-----		
	267	w	-	29. 9.	23	-	+	9	9	0
	268	w	-	--	--	+	-	--	--	-
91	269	M	-	-----			+	-----		
	270	w	-	30. 9.	24	-	+	7	7	0
	271	w	-	--	--	+	-	--	--	-
92	272	M	-	-----			+	-----		
	273	w	+	--	--	-	-	--	--	-
	274	w	-	30. 9.	24	-	+	6	6	0
93	275	M	-	-----			-	-----		
	276	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	277	w	-	--	--	+	-	--	--	-
94	278	M	-	-----			+	-----		
	279	w	-	30. 9.	24	-	+	9	9	0
	280	w	-	--	--	+	-	--	--	-

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe B3.

Paarung von behandelten Weibchen und behandelten Böcken.

Beginn der Vorbereitungszeit: 27.8.1957

Beginn der Paarung: 6.9.1957

Ende der Paarung: 16.9.1957

letzter Beobachtungstag: 16.10.1957

Während der Vorbereitungszeit und der Paarungszeit, also vom 27.8.1957-

16.9.1957 Behandlung der Böcke und Weibchen mit 0,5 ccm Venostasin pro Tier und Tag, intraperitoneal verabreicht.

Käfig Nr.	Ratte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburtstermin	Anzahl der Tage vom Paarungsbe- ginn bis zum Wurf	keine Schwangerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefundene Jg.
95	281	M	-	-----			+	-----		
	282	w	-	9.10.	33	-	+	4	4	o
	283	w	-	--	--	+	-	--	--	-
96	284	M	-	-----			+	-----		
	285	w	+	--	--	-	-	--	--	-
	286	w	-	29. 9.	23	-	+	9	9	o
97	287	M	-	-----			-	-----		
	288	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	289	w	-	--	--	+	-	--	--	-
98	290	M	-	-----			+	-----		
	291	w	-	4.10.	28	-	+	11	9	2
	292	w	-	--	--	+	-	--	--	-
99	293	M	-	-----			+	-----		
	294	w	-	1.10.	25	-	+	5	4	1
	295	w	-	3.10.	27	-	+	10	10	o
100	296	M	-	-----			+	-----		
	297	w	-	3.10.	27	-	+	1	1	o
	298	w	-	--	--	+	-	--	--	-

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe B3.

Käfig Nr.	Ratte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburtsstermin	Anzahl der Tage vom Paarungsbe- ginn bis zum Wurf	keine Schwangerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefundene Jg.
101	299	M	-	-----		-	+	-----		
	300	w	-	30. 9.	24	-	+	9	8	1
	301	w	-	--	--	+	-	--	--	-
102	302	M	-	-----		-	+	-----		
	303	w	+	--	--	-	-	--	--	-
	304	w	-	29. 9.	23	-	+	8	8	0
103	305	M	-	-----		-	+	-----		
	306	w	-	29. 9.	23	-	+	3	3	0
	307	w	-	1.10.	25	-	+	13	12	1
104	308	M	-	-----		-	+	-----		
	309	w	-	29. 9.	23	-	+	3	3	0
	310	w	-	4.10.	28	-	+	6	6	0
105	311	M	-	-----		-	+	-----		
	312	w	-	30. 9.	24	-	+	8	8	0
	313	w	-	6.10.	30	-	+	6	6	0
106	314	M	-	-----		-	+	-----		
	315	w	-	30. 9.	24	-	+	9	7	2
	316	w	-	--	--	+	-	--	--	-

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe B4.

Paarung von unbehandelten Weibchen und unbehandelten Böcken.

Beginn der Paarung: 14.10.1957

Ende der Paarung: 24.10.1957

letzter Beobachtungstag: 24.11.1957

Käfig Nr.	Ratte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburts-termin	Anzahl der Tage vom Paarungsbe- ginn bis zum Wurf	keine Schwangerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefundene Jg.
107	317	M	-	-----			-	-----		
	318	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	319	w	-	--	--	+	-	--	--	-
108	320	M	-	-----			+	-----		
	321	w	-	14.11.	31	-	+	10	10	0
	322	w	-	--	--	+	-	--	--	-
109	323	M	-	-----			+	-----		
	324	w	-	11.11.	28	-	+	9	7	2
	325	w	-	9.11.	26	-	+	8	7	1
110	326	M	-	-----			+	-----		
	327	w	-	6.11.	23	-	+	1	1	0
	328	w	+	--	--	-	-	--	--	-
111	329	M	-	-----			+	-----		
	330	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	331	w	-	9.11.	26	-	+	10	10	0
112	332	M	-	-----			+	-----		
	333	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	334	w	-	8.11.	25	-	+	7	7	0
113	335	M	-	-----			+	-----		
	336	w	-	--	--	+	-	--	--	--
	337	w	-	6.11.	23	-	+	9	7	2

Untersuchungsprotokoll der Paarungsreihe B4.

Käfig Nr.	Ratte Nr.	Geschlecht	Versuchstier gestorben	Geburtsstermin	Anzahl der Tage vom Paarungsbe- ginn bis zum Wurf	keine Schwangerschaft	Fertilität erwiesen	Gesamtzahl der Jungen	gesunde Junge	nach dem Wurf tot aufgefundene Jg.
114	338	M	-	-----		-	-	-----		
	339	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	340	w	-	--	--	+	-	--	--	-
115	341	M	-	-----			+	-----		
	342	w	-	15.11.	32	-	+	6	6	o
	343	w	-	11.11.	28	-	+	7	7	o
116	344	M	-	-----			+	-----		
	345	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	346	w	-	9.11.	26	-	+	6	6	o
117	347	M	-	-----			+	-----		
	348	w	-	--	--	+	-	--	--	-
	349	w	-	10.11.	27	-	+	7	7	o
118	350	M	-	-----			+	-----		
	351	w	-	5.11.	22	-	+	13	10	3
	352	w	-	6.11.	23	-	+	10	10	o

Literaturverzeichnis

- 1) ALLEN, E.: Amer.J. Anat. 30, 297 (1922); zit. nach 52).
- 2) ARTAULT: Rev. thérap. méd. chir. 137-140 (1896).
- 3) ASDELL, S.A.: Patterns of mammalian reproduction. New York-1946; zit. nach 52).
- 4) ASTWOOD, E.B.: Amer.J. physiol. 126, 162 (1939); zit nach 52).
- 5) AUSTIN, C.R.: Nature (Lond.) 162, 63-64 (1948).
- 6) AUSTIN, C.R.: Nature (Lond.) 162, 534 (1948).
- 7) AUSTIN, C.R. u. SMILES, J.:
J.R. Micr.Soc. 68, 13 (1948); zit. nach 19).
- 8) AYLWARD, F.X.: Proc.Soc.exp.Biol.a.Med. 49, 342 (1942);
zit. nach 146).
- 9) BAER, v.K.E.: Entwicklungsgeschichte der Tiere I. Königs-
berg 1828; zit. nach 200).
- 10) BALLERIO, C. u. GIAROLA, A.:
Ann.ostetr.ginec. (Milano) 72, 383 (1950);
zit. nach 196).
- 11) BARNES, A.C., SALLMAN, B. u. BIRKELAND, I.M.:
J.clin.a.labor.Med. 32, 1540-1541 (1947);
zit. nach 69).
- 12) BEHRING, v.O.: Z.Immunforsch. 100, 1-18 (1948); zit.nach
69).
- 13) BEILER, J.M. u. MARTIN, G.J.:
J.Biol.Chem. 174, 31 (1948); zit. nach 123).

- 14) BEILER, J.M. u. MARTIN, G.J.:
J.Biol.Chem. 183, 739 (1950); zit. nach 192).
- 15) BENDITT, E.P., SCHILLER, S., MATTHEWS, M.B. u. DORF-
MAN, A.: Proc.Soc.exp.Biol.a.Med. 77, 4, S.643
(1951); vgl. auch 107).
- 16) BENNINGHOFF, A.:
Lehrbuch der Anatomie des Menschen II. Mün-
chen - Berlin 1952.
- 17) BERGENSTAHL, D.M. u. SCOTT, W.W.:
J.Amer.Med.Assoc. 137, 1507-1511 (1948).
- 18) BIER, O. u. PLANET, N.:
Séances Soc.Biol.Filiales Associées 112, 407-
410 (1933); zit. nach 68).
- 19) BIERWAG, A.: Inaug.Diss. Tübingen 1955.
- 20) BILLERBECK, K.H.:
Ärztl.Forsch. 1, 197 (1952).
- 21) BLANDAU, R.J., BOLING, J.L. u. YOUNG, W.C.:
The length of heat in the albino rat as determi-
ned by the copulatory response: Anat.Rec. 79,
453 (1941); zit. nach 52).
- 22) BLANDAU, R.J. u. MONEY, W.L.:
The attainment of sexual maturity in the female
albino rat as determined by the copulatory re-
sponse: Anat.Rec. 86, 197 (1943); zit. nach 52).
- 23) BLANDAU, R.J. u. MONEY, W.L.:
Anat.Rec. 103, 93 (1949).
- 24) BLANDAU, R.J. u. ODOR, D.L.:
Anat.Rec. 103, 96 (1949).
- 25) BOLTRAFFIO, C.: Comm. 1.Congr.Intern.di Fisiopathologia della
Riproduzione, Milano 1948; zit. nach 69).

- 26) BOLTRAFFIO, C.: Riv.ital.Ginec. 3, 31, 390 (1949); zit nach 69).
- 27) BÜSING, K.H.: Arzneimittelforsch. 6, 320-322 (1955).
- 28) BUXTON, C.L.: Amer.J.Med.Sci. 231, 694-700 (1956).
- 29) CADILLI, G. u. VOTI, L.: Arch.Sci.Med. 87, 325 (1949); zit. nach 196).
- 30) CATCHPOLE, H.R., GERSH, I. u. PAN, S.: J.Endocrinol. 6, 277 (1950); zit. nach 69).
- 31) CHAIN, E. u. DUTHIE, E.S.: Nature (Lond.) 144, 977-978 (1939).
- 32) CHAIN, E. u. DUTHIE, E.S.: Brit.J.exp.Pathol. 21, 324-338 (1940).
- 33) CHAMBERS, R. u. ZWEIFACH, B.W.: Physiologic.Rev. 27, 436 (1947); zit. nach 71).
- 34) CHANG, M.C.: Science (N.Y.) 104, 361 (1946).
- 35) CHANG, M.C.: Proc.Soc.exp.Biol.a. Med. 66, 51-54 (1947).
- 36) CHANG, M.C.: Proc.Soc.exp.Biol.a. Med. 70, 32 (1949).
- 37) CHANG, M.C.: Ann.N.Y.Acad.Sci. 52, 1192-1195 (1950); zit. nach 69).
- 38) CHANG, M.C.: Science (N.Y.) 112, 118-119 (1950).
- 39) CHANG, M.C.: Fertility a. Ster. 2, 205-222 (1951); zit. nach 69).
- 40) CHANG, M.C.: Acta Endocrinol. (Kopenh.) 28, 121-131 (1956).
- 41) CHANG, M.C. u. PINCUS, G.: Physiologic.Rev. 31, 1-26 (1951).

- 42) CHANG, M.C. u. PINCUS, G.:
Science (N. Y.) 117, 274-276 (1953).
- 43) CHARRONAT, R.: Bibliographie du Marron d'Inde. 1940.
- 44) CIULLA, U. u. GANDOLA, M.:
Boll. Ist. sieroterap. (Milano) 27, 201 (1948);
zit. nach 196).
- 45) DALGAARD-MIKKELSEN, S.:
Nordisk. Veterinärmed. 1, 769 (1949); zit.
nach 69).
- 46) DALGAARD-MIKKELSEN, S., KVORNING, S.A. u. RASBECH, N.O.:
Scand. vet. Tskr. 37, 661 (1947); zit. nach
196).
- 47) DONTENWILL, W.: persönliche Mitteilung.
- 48) DURAN-REYNALS, F.:
C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées 99,
6-7 (1928); zit. nach 68).
- 49) DURAN-REYNALS, F.:
Ann. Inst. Pasteur 57, 597 (1936); zit. nach 69).
- 50) DURAN-REYNALS, F.:
Yale J. Biol. a. Med. 11, 601 (1939); zit. nach
71).
- 51) DURAN-REYNALS, F.:
Bacteriol. Rev. 6, 197-252 (1942); zit. nach 69).
- 52) ECKSTEIN, P. u. ZUCKERMAN, S.:
The oestrus cycle in the mammalia: Marshall's
Physiology of Reproduction, Herausgeber Parkes,
A. S. Vol. I, Teil 1, London-New York-Toronto
1956.
- 53) EICHENBERGER, E.: Gynaecologia (Basel) 121, 288-329 (1946); zit.
nach 69).

- 54) EICHENBERGER, E.: *Experientia* 5, 241-242 (1949).
- 55) EMMENS, C.W. u. SWYER, G.I.M.:
J.Gen.et Physiol. 32, 121 (1948); zit. nach 105).
- 56) EVANS u. BISHOP: *Anat.Rev.* 23, 17 (1922); zit. nach 208).
- 57) EVANS u. BISHOP: *J.metabol.Res.* 1, 335 (1922); zit. nach 208).
- 58) FARRIS, E.J.: *The care and breeding of laboratory animals.*
New York - London - 1950; zit. nach 52).
- 59) FAVILLI, G.: *Boll.Ist.sieroter. (Milano)* 19, 481-500 (1940);
zit. nach 69).
- 60) FAVILLI, G.: *Boll.Soc.med.-chir.Modena* 47, 15 (1947);
zit. nach 69).
- 61) FAVILLI, G.: *Comm. 1.Congr.Intern.di Fisiopathologia
della Riproduzione, Milano* 1948; zit. nach 69).
- 62) FAVILLI, G.: *Wien.Klin.Wschr.* 23, 405 (1952).
- 63) FEKETE, E. u. DURAN-REYNALS, F.:
Proc.Soc.exp.Biol.a. Med. 52, 119-121
(1943).
- 64) FIORENTINO, A. u. CARETTA, A.:
Zootecnica e Veterinaria. 1951; zit. nach 19).
- 65) FOGLIATTI, E. u. RUFFO, A.:
Ric.Stud.med.Sper.Ital. 18255 (1947); zit.
nach 69).
- 66) GERSH, I. u. CATCHPOLE, H.R.:
Amer.J.Anat. 85, 457-521 (1949); zit. nach 69).
- 67) GIAROLA, A. u. BALLERIO, C.:
Ann.ostetr.ginec. (Milano) 72, 1449 (1950);
zit. nach 196).

- 68) GIBIAN, H.: Angew.Chemie 5, 105-132 (1951).
- 69) GIBIAN, H.: Ergebnisse der Enzymforschung, Band 13, 1954, S. 1 bis ?
- 70) GIGGLBERGER, H. u. KLEIBEL, F.:
Deut.Med.Wschr. 15, 462-463 (1952).
- 71) GIGGLBERGER, H. u. KLEIBEL, F.:
Klin.Wschr. 19/20, 475-476 (1953).
- 72) GOSH, B.P., MUKHERJEE, A.K. u. BANERJEE, S.:
Naturwiss. 42, 77 (1955); zit. nach 138).
- 73) GOSSLER, O.: Wien.med.Wschr. 6, 105 (1955).
- 74) GOSSLER, O.: Wien.med.Wschr. ?, 932-933 (1955).
- 75) GREEN, W.W. u. WINTERS, L.M.:
Anat.Rec. 61, 457 (1935).
- 76) GREENBERG, B.E., WERTHESEN, N.T., BERMAN, S. u.
GARGILL, S.L.: J.of Urol. 54, 571-574 (1945); Ref.Chem.
Abstr. 42, 7396 (1948).
- 77) GREENBERG, B.E. u. GARGILL, S.L.:
Human Fertil. 11, 1 (1946); zit. nach 69).
- 78) HAHN, L.: Nature (Lond.) 4320:282 (1952).
- 79) HALBRECHT, I.: Schweiz.Med.Wschr. 80, 679-681 (1950).
- 80) HECHTER, O. u. HADIDIAN, Z.:
Endocrinol. 41, 204-205 (1947).
- 81) HECHTER, O. u. SOLOMON, S.:
Nature (Lond.) 162, 701 (1948).
- 82) HÜBNER, K.A., GERSING, R. u. SCHUHMACHER, H.:
Ärztl.Wschr. 7, 913-196 (1952).
- 83) ISHII, O.: Observations on the sexual cycle of the white
rat: Anat.Rec. 23, 311 (1922); zit. nach 52).

- 84) JAHRESBERICHT der E. Merk AG. -Darmstadt 1952, S. 213; zit.
nach 19).
- 85) JOEL, C.A.: Schweiz. Med. Wschr. 78, 203 (1948).
- 86) JOEL, C.A.: Studien am menschl. Sperma. 2. Aufl. Basel
1953; zit. nach 196).
- 87) JOEL, C.A. u. EICHENBERGER, E.:
Schweiz. Med. Wschr. 75, 601-604 (1945).
- 88) JOHNSTON, J.E. u. MIXNER, J.P.:
J. Animal Science 7, 440-446 (1948); zit.
nach 69).
- 89) JOHNSTON, J.E., STONE, E.J. u. MIXNER, J.P.:
J. Dairy Sci. 32, 574-579 (1949); zit. nach
69).
- 90) KAHMANN, H.: persönliche Mitteilung 1958.
- 91) KARLSON, P.: persönliche Mitteilung 1958.
- 92) KEPP, R.K. u. VASTERLING, H.W.:
Deut. Med. Wschr. 79, 287 (1945).
- 93) KING: Seasonal variations in fertility and in the sex
ratio of mammals, with special reference to
the rat: Arch. Entw. Mech. Org. 112, 61 (1927);
zit. nach 52).
- 94) KRONE, H.: persönliche Mitteilung 1958.
- 95) KÜCHMEISTER, H.: Ärztl. Forsch. 3, I/102-108 (1953).
- 96) KULONEN, E.: Acta Physiol. Scand. 17, 170 (1949); zit.
nach 19).
- 97) KULONEN, E.: Acta Physiol. Scand. 88, 24 (1951); zit.
nach 19).
- 98) KURZROK, R.: Amer. J. clin. Pathol. 18, 491 (1948).
- 99) KURZROK, R.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 52, 1180-1185 (1950);
zit. nach 69).

- 100) KURZROK, R., LEONARD, S.L. u. CONRAD, H.:
Amer. J. Medicine 1, 491-506 (1946); zit.
nach 69).
- 101) KUSCHE, E.: Med. Inaug.-Dissert. München 1949; zit.
nach 68).
- 102) LAMS, H.: Belg. Tijdschr. voor Geneeskunde 11, 495
(1953); zit. nach 19).
- 103) LAMS, H.: Bruxelles Médical 34, 13 (1954); zit. nach
19).
- 104) LAVOLLAY, J.: Sitzungsberichte Soc. biol. Paris 139, 270 (1945).
- 105) LEHMANN, H.: Die Medizinische 1405-1407 (1955).
- 106) LEHNARTZ, E.: Einführung in die Chemische Physiologie. Ber-
lin-Göttingen-Heidelberg 1952.
- 107) LEITARTIKEL im J. Amer. Med. Assoc. 147, 1573 (1951).
- 108) LEONARD, S.L. u. KURZROK, R.:
Endocrinol. (Springf.) 37, 171 (1945); zit.
nach 69).
- 109) LEONARD, S.L. u. PERLMAN, P.L.:
Anat. Rec. 96, 47 (1946).
- 110) LEONARD, S.L., PERLMAN, P.L. u. KURZROK, R.:
Endocrinol. (Springf.) 39, 261-269 (1946);
zit. nach 69).
- 111) LEONARD, S.L., PERLMAN, P.L. u. KURZROK, R.:
Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 66, 517 (1947).
- 112) LEONARD, S.L., PERLMAN, P.L. u. KURZROK, R.:
Endocrinol. (Springf.) 42, 176-180 (1948);
zit. nach 69).
- 113) LEWIS, W.H. u. WRIGHT, E.S.:
Contr. Embryol. Carnegie Inst. (Washington) 25,
113 (1935); zit. nach 196).

- 114) LONG, J.A.: Univers.Calif.Publ.Zool. 9, 105 (1912); zit. nach 200).
- 115) LONG, J.A. u. EVANS, H.M.:
The oestrus cycle in the rat and its associated phenomena: Mem.Univ.Calif. 6 (1922); zit. nach 52).
- 116) LUNDQUIST, F.: Acta Physiol.Scand. 17, 44-54 (1949).
- 117) LUNDQUIST, F., THORSTEINSSON, Th. u. BUUS, O.:
Biochem.J. 59, 69-79 (1955); Ref. Chem. Abstr. 49, 7012c (1955).
- 118) MADINAVEITIA, J.: Biochem.J. 32, 1806 (1938); zit. nach 69).
- 119) MANDL, A.: The Phases of the Oestrus cycle in the adult white rat. J.exp.Biol. 28, 576-584 (1951).
- 120) MANSANI, F.E. u. MAZZELLA, A.:
Riv.Ostetr. (Firenze) 10, 653-675 (1953).
- 121) MARTIN, G.J.: persönliche Mitteilungen an SIEVE; siehe 179).
- 122) MARTIN, G.J.: Science (N.Y.) 117, 363 (1953).
- 123) MARTIN, G.J. u. BEILER, J.M.:
Science (N.Y.) 115, 402 (1952).
- 124) MATHIES, H.: Planta Medica 4, 129 (1954).
- 125) MATIS, P., SCHEELE, J. u. DORTENMANN, S.:
Die Medizinische 21, 716 (1953).
- 126) McCLEAN, D.: J.Path.Bact. 33, 1045 (1930).
- 127) McCLEAN, D.: J.Path.Bact. 34, 459 (1931); zit. nach 69).
- 128) McCLEAN, D.: J.Path.Bact. 54, 284 (1942); zit. nach 105).
- 129) McCLEAN, D. u. ROWLANDS, I.W.:
Nature (Lond.) 150, 627-628 (1942).
- 130) METZGER, M. u. SPIER, H.W.:
Deut.Med.Wschr. 31/32, 1068 (1953).

- 131) MEYER, K.: *Physiol.Revs.* 27, 335 (1947); zit. nach 179).
- 132) MEYER, K., DUBOS, R. u. SMYTH, E.M.:
 Proc.Soc.exp.Biol.a.Med. 34, 816-818 (1936).
- 133) MEYER, K. u. PALMER, J.W.:
 J.of Biol.Chem. 107, 629-634 (1934).
- 134) MEYER, K. u. RAPPORT, M.M.:
 Science (N.Y.) 113, 596-599 (1951).
- 135) MICHELSON, L.: *Transact.Conf.Steril.Infert.* 3, 112 (1947);
 zit. nach 196).
- 136) MICHELSON, L., HAMAN, I.O. u. KOETS, P.:
 J.Urol. 61, 799 (1949).
- 137) MICHELSON, L. u. KOETS, P.:
 J.Urol. 61, 803-805 (1949).
- 138) MILLMAN, N. u. HARTMAN, C.G.:
 Fertil.a.Steril. 7, 110-122 (1956).
- 139) MILLMAN, N. u. ROSEN, F.:
 Science (N.Y.) 118, 212-213 (1953).
- 140) MORICARD, R.: *Gynéc.et Obstétr.* 45, 781 (1946); zit. nach
 69).
- 141) MORICARD, R.: *Rev.Gynéc.e d'Obst.* 2, 615-632 (1948); *Ref.*
 Excerpta medica Sect. II, 3 208-209 (1950);
 vgl. a. *Gynéc. et Obstétr.* 47, 411 (1948).
- 142) MORICARD, R.: *Gynaecologia (Basel)* 138, 310-336 (1954).
- 143) MORICARD, R. u. BOSSU, J.:
 Annales d' Endocrinol. 10, 89 (1949); zit.
 nach 19).
- 144) NIENDORF, F.: *Arch.Gynäk.* 180, 234-236 (1951).
- 145) NIENDORF, F.: *Münch. Med. Wschr.* 95, 366 (1953).
- 146) OLSON, E.J.: *Advances in Carbohydrate Chemistry (N.Y.)*
 12, 299-319 (1957).

- 147) PALLA, V.: Boll.Soc.ital.biol.sper. 22, 719-724 (1946);
zit. nach 69).
- 148) PARKES, A.S.: Lancet 265, 1285 (1953); zit. nach 138).
- 149) PARKES, A.S.: Acta endocrinol. (Kobenh.) 23, Suppl. 28,
63-71 (1956).
- 150) PELLIZZARI, C.: Congr. Ostetr.Ginec.Italia Sept. 1950; zit.
nach 69).
- 151) PERLICK, E. u. BÖDECKER, H.:
Münch.Med.Wschr. 29, 1465 (1951).
- 152) PERLMAN, S., LEONARD, S.L. u. KURZROK, R.:
Endocrinol. 42, 26 (1948); zit. nach 105).
- 153) PIJOAN, M.: J.of exp.Med. 53, 37-42 (1931); zit. nach
69).
- 154) PINCUS, G.: Proc.Roy.Soc.London s.B. 107, 132 (1930);
zit. nach 41).
- 155) PINCUS, G. u. ENZMAN, E.V.:
J.of exp.Med. 62, 665-675 (1935).
- 156) PINCUS, R. u. ENZMAN, E.V.:
J.exp.Zool. 73, 195 (1936); zit. nach 69).
- 157) PINCUS, G., PIRIE, N.W. u. CHANG, M.C.:
Arch.Biochem. 19, 388 (1948); zit. nach 19).
- 158) PRESTON, R.K.: zit. bei MARTIN; siehe 122).
- 159) RATSCHOW, M.: Ther.Gegenw. 90, 129 (1951).
- 160) RATSCHOW, M. u. BÖDECKER, H.:
Münch.Med.Wschr. 27, 1368-1373 (1952).
- 161) RIISEFELDT, O.: Acta endocrinol. 3, 137-150 (1949); zit. nach
69).
- 162) RIISEFELDT, O.: Nature (Lond.) 163, 874 (1949).

- 163) RIISEFELDT, O.: Nordisk med. 42, 1892 (1949); zit. nach 69).
- 164) RIISEFELDT, O.: Gyaecologia (Basel) 129, 229-238 (1950).
- 165) RIISEFELDT, O.: Ztschr. Vit. Horm. Fermentforsch. 3, 66-68 (1950); Ref. Excerpta Medica Sect. II 3, 1022 (1950).
- 166) RIZZATTI, E.: Boll. Soc. med. -chir. Modena 41, 321 (1941); zit. nach 69).
- 167) RIZZATTI, E.: Boll. Soc. med. -chir. Modena 42, 606 (1942); zit. nach 69).
- 168) RIZZATTI, E.: Boll. Soc. med. -chir. Modena 43, 230 (1942); zit. nach 69).
- 169) ROBIN, V., SZUMOWSKI, P. u. KRAMER, T.:
Thérapie 7, 3 (1952); zit. nach 19).
- 170) ROCHA E SILVA, M. u. DRAGSTEDT, C.A.:
J. Pharm. exp. Therap. 73, 405 (1941); zit.
nach 68).
- 171) RODNEY, G. et al.: J. Biol. Chem. 183, 739 (1950); zit. nach 192).
- 172) ROWLANDS, I.W.: Nature (Lond.) 154, 331-333 (1944).
- 173) SALLMAN, B. u. BIRKELAND, J.M.:
Amer. J. Physiol. 152, 271-279 (1948); Ref.
Chem. Abstr. 42, 5980 (1948).
- 174) SALLMAN, B. u. BIRKELAND, J.M.:
Ann. N. Y. Acad. Sci. 52, 1186-1191 (1950);
zit. nach 69).
- 175) SCHMID, A.: Inaug.-Diss. Tübingen 1952
- 176) SCHULZ, W.: Mitt. an den Nordwestdeutschen Gynäkol.
Kongr. 1953; zit. nach 105).
- 177) SELIGER, H.: Therapie der Gegenwart 11, 414 (1953).

- 178) SHERBER, D.A., BIRNBERG, C.H. u. KURZROK, R.:
Endocrinol. 42, 20-25 (1948); zit. nach 69).
- 179) SIEVE, B.F.:
Science 116, 373-385 (1952).
- 180) STARY, Z. u. TEKMAN, S.:
Münch. Med. Wschr. 93, 1511-1515 (1951).
- 181) STOCKARD, C.R. u. PAPANICOLAU, G.N.:
Amer. J. Anat. 1917; zit. nach 52).
- 182) SWYER, G.I.M.:
Lancet 251, 755 (1946); zit. nach 69).
- 183) SWYER, G.I.M.:
Biochemic. J. 41, 409-413 (1947).
- 184) SWYER, G.I.M.:
Biochemic. J. 41, 413-417 (1947).
- 185) SWYER, G.I.M.:
Nature (Lond.) 159, 873 (1947).
- 186) SWYER, G.I.M.:
Nature (Lond.) 159, 874 (1947).
- 187) SWYER, G.I.M.:
Biochemic. J. 42, 28-32 (1948).
- 188) SWYER, G.I.M.:
Biochemic. Soc. Sympos. 7, 3, 4-39 (1951);
zit. nach 105).
- 189) SWYER, G.I.M. u. EMMENS, C.W.:
Biochemic. J. 41, 29 (1947).
- 190) TABLET:
zit. bei MATHIES; siehe 124).
- 191) TAFEL, R.E., TITUS, P. u. WIGHTMAN, W.W.:
Amer. J. Obstetr. Gynecol. 55, 1023 (1948).
- 192) THOMPSON, R.Q., STURTEVANT, M. u. BIRD, O.D.:
Science 118, 657 (1953).
- 193) TYLER, T.:
J. amer. med. Assoc. 146, 307 (1950); zit.
nach 196).
- 194) VANDELLI, I.:
Boll. Ist. sieroter. milan. 26, 109-113 (1947);
zit. nach 69).
- 195) VANDELLI, I.:
Boll. Soc. med. -chir. Modena 47, 9 (1947);
zit. nach 69).

- 196) VASTERLING, H. W., KEPP, R. K. u. HEINRICHS, G.:
Geburtsh. u. Frauenheilk. 15, 546-557 (1955).
- 197) VENDRAMINI, R. u. VANDELLI, I.:
Boll. Ist. sieroter. Milan. 25, 133 (1946); zit.
nach 69).
- 198) VENOSTASIN-LITERATUR:
Sonderdrucksammlung der Fa. Klinge, Mün-
chen 1957.
- 199) VIGNOCCHI, R.: Boll. Soc. med. -chir. Modena 45, 528 (1945);
zit. nach 69).
- 200) WALLENFELS: Angew. Chem. 9, 218-219 (1951).
- 201) WERTHESEN, N. T., BERMAN, S., GREENBERG, B. E. u.
GARGILL, S. L.: J. of Urol. 54, 565-570 (1945); Ref. Chem.
Abstr. 42, 7357 (1948).
- 202) WESTING, H.: Deut. Med. Wschr. 46, 1607 (1953).
- 203) WYBURN, E. M. u. BACSICH, P.:
Endeavour 10, 38 (1951); zit. nach 19).
- 204) YAMANE, J.: Cytologia (Tokyo) 1, 394 (1930); zit. nach
69).
- 205) YAMANE, J.: Internat. J. Cytol. 1, 343 (1930); zit. nach
41).
- 206) YAMANE, J.: Cytologia (Tokyo) 6, 474 (1935); zit. nach
69).
- 207) YAMANE, J.: Sonderbeilage der Deut. tierärztl. Wschr. 1,
Nr. 4 (1951).
- 208) ZONDEK, B.: Hormone des Ovariums und des Hypophysenvor-
derlappens, Wien 1935.

Abschliessend möchte ich

Herrn Professor Dr. med. G.K. Döring

aufrichtig danken! Auf seine Anregung und unter seiner Anleitung wurde diese Arbeit verfasst. Er war mir mit seinem grossen Wissen und seiner fördernden Kritik ein wertvoller Ratgeber !

Ebenfalls gilt mein Dank

Herrn Professor Dr. H. Kahmann vom Zoologischen Institut der Universität München,

Herrn Privatdozent Dr. P. Karlson vom Max-Plank-Institut für Biochemie,

Herrn Privatdozent Dr. W. Dontenwill vom Pathologischen Institut der Universität München,

Herrn Dr. med. H. Krone von unserer I. Frauenklinik der Universität München,

Herrn Dr. med. Schenz von der Chemisch-Pharmazeutischen Fabrik Klinge-GmbH. München,

die mich überall dort unterstützten, wo der Rat des Fachmannes notwendig war.

Ausserdem danke ich auch Herrn Siegert, dem Tierpfleger unserer Klinik, für seine verständnisvolle Mitarbeit.

Das Venostasin wurde uns freundlicherweise von der Herstellerfirma A. Klinge-GmbH., München 23, zur Verfügung gestellt.

L E B E N S L A U F

Am 16. Mai 1934 wurde ich als Sohn des Facharztes für Zahnheilkunde Dr. med. Dr. med. dent. Wilhelm Jäger und seiner Ehefrau Gerda, geb. Dittmar, in Berlin geboren.

Im Jahre 1945 fiel mein Vater.

1948 heiratete meine Mutter Herrn Dr. med. Ludwig Hämmerle, Facharzt für Gynäkologie und Geburtshilfe, Chefarzt des Wöchnerinnenheims und der Frauenklinik Augsburg.

Nach dem Besuch der Grundschule in Berlin und Garmisch von 1940 bis 1944 und anschliessendem Aufenthalt im Landerziehungsheim und Oberschule in Schondorf am Ammersee, trat ich nach Kriegsende 1945 in das Humanistische Gymnasium bei St. Anna in Augsburg über. Im Juni 1953 bestand ich dort die Reifeprüfung.

Im Wintersemester 1953/54 begann ich mein Studium an der Universität Tübingen und legte dort nach 5 Fachsemestern die ärztliche Vorprüfung ab.

Darauf ging ich im Sommersemester 1956 und im Wintersemester 1956/57 an die Universität Hamburg.

Seit Beginn des Sommersemesters 1957 studiere ich an der Universität München und bin jetzt im 6. klinischen Semester.



